



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Suplementação dietária com mananoproteína no cultivo do camarão  
branco do Pacífico em sistema de bioflocos**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Aquicultura e Recurso Pesqueiros.

Orientador: Felipe do Nascimento Vieira  
Coorientadora: Débora Machado Fracalossi

**Marysol Santos Rodrigues**

Florianópolis,  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rodrigues, Marysol Santos

Suplementação dietária com mananoproteína no cultivo do camarão branco do Pacífico em sistema de bioflocos / Marysol Santos Rodrigues ; orientador, Felipe do Nascimento Vieira ; coorientadora, Débora Machado Fracalossi. - Florianópolis, SC, 2015.

70 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Litopenaeus vannamei. 3. Bioflocos. 4. Prebiótico. 5. Mananoproteína. I. do Nascimento Vieira, Felipe . II. Machado Fracalossi, Débora . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

**Suplementação dietária com mananoproteína no cultivo do camarão  
branco do Pacífico em sistema de bioflocos**

Por

MARYSOL SANTOS RODRIGUES

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

---

Dr. Felipe do Nascimento Vieira – *Orientador*

---

Dr. Bruno Corrêa da Silva

---

Dr. José Luiz Pedreira Mouriño

---

Dr. Rodrigo Schweitzer



## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me permitido sonhar e a todos que me ajudaram a realizar este sonho. Aos meus pais e irmãos que sempre estiveram presentes mesmos distantes.

Ao Carlos meu melhor amigo e companheiro, nesta jornada e em outras, por toda ajuda e paciência que teve nos momentos mais difíceis.

A meu orientador Felipe, pela paciência, compreensão, dedicação, persistência, ensinamentos fornecido durante estes dois anos e meio. A coorientadora Débora por toda a ajuda concedida para a realização desta dissertação.

A empresa ALLTECH por ter doado o Actigen®, e estar sempre à disposição para tirar dúvidas sobre o Actigen®.

A Mariana Soares pela ajuda na formulação da ração. Ao Fernando e à Amarilis do Labnutri que ajudaram muito na realização e análise das rações.

Norha, Esmeralda, Joselle, Keterin, Isabela, Priscila, Ariane, por toda a ajuda, conversas, risadas, tira dúvidas durante todo o período de desenvolvimento desta pesquisa.

À Cristiane Guetler e Delano, pelo acompanhamento e realização das análises imunológicas.

Ao José Luiz, Lucas, Vitor Pontinha e Ana Carolina, pela ajuda na realização da análise histológica.

Aos amigos dos Laboratórios da Estação de pesquisa da Barra da Lagoa: à Scheila, Lincon, Fernanda, Marcella, Tamires, Efrayn, Lucas, Leonardo, Marco, Mariane, Ana Gabriela, Fabio, Felipe, Francisco pelo apoio técnico e amizade.

Aos funcionários da estação Davi, Ison, Andreia, Dimas, Paulo(s), Diego, Francisco, Carlos Miranda, pela amizade, auxílios nas pequenas e grandes coisas.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pela oportunidade de ter constituído o Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Recursos Pesqueiros e por ter contribuído para a aquisição de novos conhecimentos. A todos os professores da pós-graduação por terem ofertado uma rica fonte de novos conhecimentos e proporcionado meu aperfeiçoamento profissional. À CAPES pela bolsa fornecida, durante todo o mestrado.

Agradeço a todas estas pessoas citadas e mesmo a que não coloquei, mas que estiveram junto comigo de alguma forma. A estas pessoas eu dedico este trabalho e agradeço por toda a ajuda dada, muito obrigada!!!!



## RESUMO

O camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em 2013 foi o responsável por 74% da produção mundial de camarão, porém o seu cultivo sofre grandes perdas na produção causada por doenças virais e bacterianas. Para diminuir a incidência de doenças tem se buscado por novas formas de cultivo mais biosseguros, como o uso de aditivo alimentar que melhorem a resposta imune e os parâmetros zootécnicos. Este estudo tem como objetivo avaliar o uso do aditivo alimentar mananoproteína (MP) na dieta de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema superintensivo com bioflocos. Foram formuladas três dietas com diferentes concentrações de MP ( $0,2\text{g. kg}^{-1}$ ;  $0,8\text{g. kg}^{-1}$ ;  $1,2\text{g. kg}^{-1}$ ) e o grupo controle sem a suplementação de MP. O experimento consistiu em uma engorda na densidade de 400 camarões.  $\text{m}^3$ , sendo que o peso médio inicial dos camarões era de  $3,64 \pm 0,07\text{g}$ . Foram avaliados os parâmetros de qualidade de água, microbiota intestinal, histologia do intestino médio e índices zootécnicos. O delineamento experimental foi totalmente casualizado em triplicata. Os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia durante 65 dias. Ao final do experimento, não foi observada diferença nos parâmetros de qualidade de água em nenhum tratamento ( $p < 0,05$ ). As vilosidades intestinais apresentaram maior área de superfície interna nos animais alimentados com dieta suplementada com 0,08% e 0,12% de MP ( $p < 0,05$ ). Os camarões que receberam a dieta contendo MP, obtiveram cerca de 10% a mais na sobrevivência em relação aos camarões alimentados com a dieta controle ( $p < 0,05$ ). Não foi observada diferença estatística nos demais parâmetros zootécnicos avaliados (peso final, ganho de peso semanal, biomassa final, eficiência alimentar). Sendo assim a suplementação da dieta com mananoproteína nas diferentes concentrações, ocasionou uma melhora na sobrevivência dos camarões e aumento na área de superfície do intestino médio.

**Palavras-chave:** Aquicultura, *Litopenaeus vannamei*, bioflocos, prebiótico, mananoproteína.



## ABSTRACT

The marine shrimp *Litopenaeus vannamei* in 2013 was responsible for 74% of world production of shrimp, but his crop suffers heavy losses in production caused by viral and bacterial diseases. To decrease the incidence of disease has been searched for new ways of cultivation biosseguros more, as the use of food additives that enhance the immune response and performance parameters. This study aimed to evaluate the use of mannoprotein prebiotic (MP) in the diet of *Litopenaeus vannamei* grown in super intensive bioflocs system. For this, tree diets were formulated with different concentrations of MP (0.2 g. kg<sup>-1</sup>, 0.8 g. kg<sup>-1</sup>, 1,2 g. kg<sup>-1</sup>) and the control group without supplementation MP. The experiment consisted of a fattening in bioflocs with density of 400 shrimps/m<sup>3</sup> and the shrimps presented the initial weight of 3.64 ± 0.07g. It was evaluated the parameters of water quality, intestinal microbiota, the midgut histology, and biological indices. The experimental design was completely randomized in triplicate. Shrimps were fed four times a day for 65 days. At the end of the experiment, there was no difference in the water quality of the parameters in any treatment (p<0,05). The intestinal villi had greater internal surface area in the fed with the diet supplemented with 0.08% and 0.12% of MP (p<0,05). In technical aspects, there was a higher survival (10%) in the treatments in which shrimps were fed with diet containing MP, compared to the control (p<0,05). There was no statistical difference in the remaining performance parameters (final weight, weekly weight gain ,final biomass, food conversion ratio (FCR)). Thus, supplementing the diet with mannoprotein at different concentrations has shown an improvement in survival of shrimps and an increase in the surface area of the midgut.

**Keywords:** Aquaculture, *Litopenaeus vannamei*, bioflocs, prebiotic, mannoprotein.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Representação esquemática da formação do bioflocos em uma unidade de cultivo de camarão marinho. ....	20
<b>Figura 2:</b> Modo de ação dos prebióticos. ....	24
<b>Figura 3:</b> Composição da parede celular da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	25
<b>Figura 4:</b> Modo de medição do perímetro, largura e comprimento do intestino médio de <i>L. vannamei</i> . ....	39
<b>Figura 5:</b> Concentrações de <i>Vibrio</i> spp. (A) e bactérias heterotróficas totais (B) da microbiota intestinal de <i>L. vannamei</i> alimentado com dietas suplementas com concentrações diferentes de Mananoproteína, cultivados em bioflocos. ....	43



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Formulação e composição das dietas experimentais para juvenil de camarão marinho <i>L. vannamei</i> , com suplementação crescente de Mananoproteína (MP).....	36
<b>Tabela 2:</b> Parâmetros de qualidade de água, de engorda experimental de <i>Litopenaeus vannamei</i> em sistema superintensivo de bioflocos microbianos, com dietas suplementadas com Mananoproteína.....	41
<b>Tabela 3:</b> Histomorfometria do trato intestinal do camarão marinho <i>L. vannamei</i> cultivado em sistema de superintensivo de bioflocos, alimentado com diferentes concentrações do prebiótico Mananoproteína (MP) durante 65 dias.....	45
<b>Tabela 4:</b> Parâmetros zootécnicos da engorda experimental de <i>Litopenaeus vannamei</i> , em sistema superintensivo de bioflocos microbianos, com dietas suplementadas com diferentes concentrações de Mananoproteína. ....	477



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	17
1.1	Cultivo superintensivo de camarões em sistema de bioflocos ..	18
1.2	Aditivos Alimentares.....	21
1.2.1	Imunoestimulantes e Fitoterápicos .....	21
1.2.2	Ácidos orgânicos .....	22
1.2.3	Probióticos.....	22
1.2.4	Prebióticos .....	23
2	JUSTIFICATIVA.....	27
3	HIPÓTESE.....	27
4	OBJETIVO.....	28
4.1	Objetivo geral.....	28
4.2	Objetivo específico.....	28
5	FORMATAÇÃO DA DISSERTAÇÃO.....	29
	ARTIGO CIENTÍFICO.....	30
6	Artigo Cientifico .....	31
6.1	Resumo.....	31
6.2	Abstract .....	32
6.3	Introdução .....	33
6.4	Material e métodos .....	35
6.4.1	Material biológico .....	35
6.4.2	Preparação das dietas experimentais .....	35
6.4.3	Delineamento experimental e unidades experimentais.....	37
6.4.4	Análise dos parâmetros indicadores da qualidade de água.....	38
6.4.5	Análise microbiológica do trato intestinal.....	38
6.4.6	Análise histológica .....	39
6.4.7	Parâmetros zootécnicos .....	40
6.4.8	Análise estatística .....	40
6.5	Resultados e Discussão .....	40
6.5.1	Parâmetros de qualidade de água.....	40
6.5.2	Avaliação microbiológica.....	42
6.5.3	Avaliação histológica .....	43
6.5.4	Parâmetros zootécnicos .....	45
6.6	Conclusão.....	47

6.7	Referências do artigo .....	47
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
9	REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL .....	55
	Anexo 1: Ração pronta, sem secar na estufa.....	66
	Anexo 2: Mananoproteína, Actigen®.....	67
	Anexo 3: Unidades Experimentais.....	68
	Anexo 4: Tanque de remoção de sólidos .....	69
	Anexo 5: Morfologia do trato intestinal do camarão marinho <i>L. vannamei</i> , alimentado com dieta contendo diferentes concentrações de mananoproteína (MP), cultivados em sistema superintensivo de bioflocos microbianos.....	70

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce no mundo e apresenta uma taxa de crescimento médio anual de 6,2%, com uma produção de 66,6 milhões de toneladas de animais aquáticos e de 23,3 milhões de toneladas de algas que gerou uma renda US\$ 137.700,00 milhões e US\$ 6.400,00 milhões em 2012, respectivamente (FAO, 2014). A produção de crustáceos representou 9,7% da biomassa animal produzida (4,3 milhões de toneladas) e gerou uma renda de US\$ de 30.864,00 milhões em 2012. Dentre as espécies de crustáceos produzidas, destaca-se o camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei*, com uma produção anual superior a três milhões de toneladas em 2012 (FAO, 2014).

Apesar do *Litopenaeus vannamei* ser a espécie de camarão marinho que tem maior produção mundialmente (FAO, 2014), o cultivo desta espécie é acometido por várias doenças. A maioria destas doenças é causada por vírus, como a síndrome de taura (TSV), a vírus da mionecrose infecciosa (IMNV), a necrose hipodermal hepatopancreática (IHHNV) e, o vírus da Mancha Branca (*White Spot Syndrome Virus - WSSV*) (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008; LIGHTNER et al., 2012a).

No entanto, as doenças bacterianas causadas por *Vibrio* spp. também tem se tornado um grande entrave no cultivo de camarões peneídeos na América do Sul e na Ásia (AUSTIN; ZHANG, 2006). Até recentemente acreditava-se que as bactérias do gênero *Vibrio* apenas reduzem a sobrevivência e o crescimento dos camarões nos cultivos. Porém, a Síndrome da Necrose Hepatopancreática Aguda (*Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome- AHPNS*) causa mortalidades massivas, que até então eram apenas atribuídas às enfermidades virais (NUNAN et al., 2014). A AHPNS é causada por uma cepa de bactéria identificada como *Vibrio parahaemolyticus*, altamente patogênico, que libera toxinas causadoras de disfunções no hepatopâncreas, resultando em mortalidades massivas de juvenis de *Litopenaeus vannamei* (LIGHTNER et al., 2012b; TRAN et al., 2013).

As bactérias do gênero *Vibrio* são típicas de ambientes marinhos e estuarinos (GHAZALEH; FROELICH; NOBLE, 2014) e fazem parte da microbiota natural dos camarões (LIGHTNER, 1996; LIU et al., 2011). Elas podem representar risco ao cultivo quando o camarão apresenta a capacidade imune diminuída ou está fisiologicamente estressado. Muitas vezes estas infecções são atribuídas a formas de

manejo inadequadas e às condições ambientais adversas, desencadeando maior contaminação pelas bactérias (ALDERMAN; HASTINGS, 1998).

Para conter os surtos de doenças bacterianas são utilizados indiscriminadamente quimioterápicos com fins terapêuticos e profiláticos, o que promove a seleção cepas bacterianas resistentes aos antibióticos (REBOUÇAS et al., 2011; BANERJEE et al., 2012). Karunasagar et al. (1994) já relatavam a mortalidade de larvas de *Penaeus monodon* causadas por cepas de *Vibrio harveyi* resistentes a cloranfenicol, estreptomicina e eritromicina. Além disso, os quimioterápicos podem deixar resíduos no ambiente (TENDENCIA; LA PENA, 2001; LE; MUNEKAGE; KATO, 2005; MARTINEZ, 2009) e no camarão que será consumido como alimento humano (MELO et al., 2011; NORMAN et al., 2014; SUDHA et al., 2014).

A União Europeia proibiu, a partir de janeiro de 2006, o uso de antibióticos na produção animal. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento já proibiu o uso de diversos antibióticos tais como o cloranfenicol e nitrofuranos (IN nº 09, 27/06/2003), quilononas e sulfonamidas (IN nº 26, 9/07/2009), espiramicina e eritromicina (IN nº 14, 17/05/2012) (apud SILVA, 2014).

Devido a restrição no uso de antibióticos, tem se buscado novas alternativas de controle das patologias, como o uso de aditivos alimentares os quais atuam modificando a microbiota intestinal do animal e o seu sistema imunológico (DEFOIRD, 2014). Aliado ao uso de aditivos alimentares, a utilização de cultivos biosseguros, com mínima renovação de água e altas densidades de estocagem, como o caso do cultivo em sistema de bioflocos (CRAB et al., 2012; FRÓES et al., 2013), possibilitam a produção de camarões marinhos em regiões onde os agentes etiológicos se tornaram endêmicos (POERSCH et al., 2012).

## **1.1 CULTIVO SUPERINTENSIVO DE CAMARÕES EM SISTEMA DE BIOFLOCOS**

O cultivo de camarões em bioflocos propicia o aumento da produtividade através da elevação da densidade de estocagem (AVNIMELECH, 1999), que pode chegar até 900 camarões por metro cúbico (McABEE et al., 2003). O cultivo de camarões em bioflocos, também chamado de “*Biofloc Technology System*” – (BFT), foi assim denominado devido à aparência de flocos dos aglomerados microbianos que se formam na água do cultivo (CRAB et al., 2007). Esse biofoco microbiano é composto principalmente por aglomerado de bactérias,

mas também contêm microalgas, protistas, nematódeos e outros pequenos animais, exoesqueletos, fezes de camarões e restos de ração (BURFORD et al., 2003).

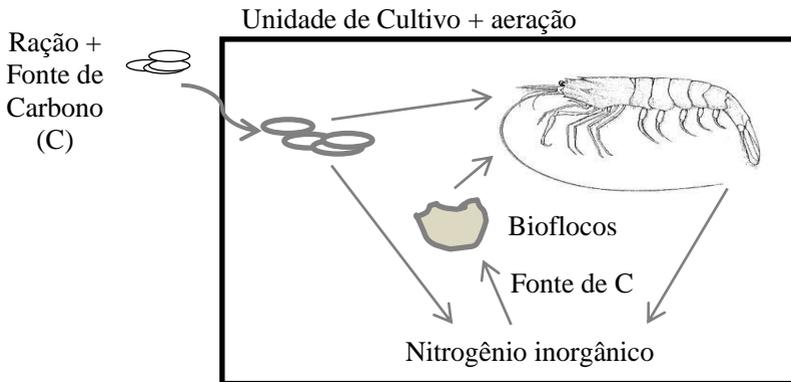
Os bioflocos microbianos são formados pela adição de uma fonte de carbono orgânico (melaço de cana-de-açúcar, sacarose, dextrose entre outras) na água rica em compostos nitrogenados, com suprimento de aeração para oxigenação, movimentação e mistura (DE SCHRYVER et al., 2008) (Figura 1). O carbono orgânico é utilizado como fonte de carbono e energia por bactérias heterotróficas presentes na água do cultivo, que assimilam a amônia ionizada como fonte de nitrogênio, imobilizando este composto nitrogenado sob a forma de biomassa bacteriana que crescem como bioflocos (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Para favorecer o crescimento destas bactérias heterotróficas, é necessário manter a relação carbono / nitrogênio (C:N) na água acima de 10:1 (AVNIMELECH, 1999; ASADUZZAMAN et al., 2008; XU; PAN, 2013).

A aplicação destas fontes de carbono orgânico na água do cultivo possibilita o controle dos compostos nitrogenados tóxicos aos camarões (amônia e nitrito), que são oriundos da excreção dos animais e da decomposição da matéria orgânica (DE SCHRYVER et al., 2008; AVNIMELECH; KOCHBA, 2009). Neste sistema de cultivo, o efetivo controle das concentrações de compostos nitrogenados tóxicos na água é que possibilita a elevação das densidades de estocagem, resultando em maior produtividade (AVNIMELECH, 1999).

Além das bactérias heterotróficas, também estão presentes na água do cultivo as bactérias quimioautotróficas (oxidadoras de amônia e nitrito) (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Essas bactérias são relativamente mais eficientes na remoção da amônia no cultivo, mas possuem crescimento lento, atrasando o estabelecimento de uma população no tanque que seja capaz de manter os compostos nitrogenados tóxicos em concentrações dentro dos níveis recomendados ao cultivo (AVNIMELECH, 2012). Com o início do processo de nitrificação, se caracteriza uma nova fase no cultivo em bioflocos (SCHVEITZER et al., 2013a). Nesta fase, onde os compostos nitrogenados tóxicos são predominantemente controlados por bactérias quimioautotróficas, não se faz mais necessária a aplicação de carbono orgânico na água. Entretanto, devido à liberação de íons hidrogênio pelo processo de nitrificação, ocorre queda acentuada da alcalinidade da água, que deve ser corrigida pela aplicação de cal hidratada ou bicarbonato de sódio na água (FURTADO et al., 2011).

Didaticamente, o bioflocos pode ser dividido em duas fases cronológicas: na primeira predominam bactérias heterotróficas e na segunda as bactérias quimioautotróficas. Em geral, o surgimento das bactérias autotróficas acontece entre 15-22 dias após o início da fertilização orgânica da água (AVNIMELECH, 2012). Entretanto, as vias heterotróficas e autotróficas de controle da amônia na água do cultivo não são excludentes e podem estar presentes simultaneamente ao longo de todo cultivo (LARA, 2012). Quando a água de um cultivo em bioflocos apresenta processo de nitrificação pode ser denominada “água de bioflocos madura” (FURTADO et al., 2014).

**Figura 1:** Representação esquemática da formação do bioflocos em uma unidade de cultivo de camarão marinho.



Fonte: Adaptado de Crab et al. (2012).

Existe também uma terceira via de remoção dos compostos nitrogenados tóxicos da água do cultivo em bioflocos, a via fotoautotrófica, representada por organismos fotossintetizantes (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). No entanto, nos cultivos superintensivos com bioflocos, a produção primária bruta é mínima (SCHVEITZER et al., 2013a), sendo que a contribuição das algas na remoção de nitrogênio amoniacal da água diminui à medida que aumenta à intensificação do cultivo (HARGREAVES, 2006). Nos cultivos de camarões em sistemas com mínima renovação de água, a taxa de fotossíntese diminui à medida que aumenta a taxa de arraçoamento, chegando a ser nula a contribuição das algas nos cultivos

superintensivos com taxas de arraçoamento acima de 700 kg/hectare por dia (HARGREAVES, 2013).

Devido a estas características, o cultivo de camarões em bioflocos surge como alternativa para aumentar a produtividade, reduzir gastos com captação e renovação de água e, conseqüentemente, diminuir a constante eliminação de efluentes (DE SCHRYVER et. al., 2008). O fato de haver renovação de água mínima, evita a entrada de vetores ou de microrganismos patogênicos, funcionando como uma barreira sanitária e uma eficaz medida de biosseguridade. Além disso, pode diminuir o potencial infeccioso de víbrios e outros patógenos, mesmo quando estes estão presentes na água do cultivo (CRAB et al., 2010).

## 1.2 ADITIVOS ALIMENTARES

A indústria aquícola enfrenta vários desafios importantes com relação ao controle de doenças infecciosas. O uso indiscriminado de antibióticos leva à seleção de cepas de bactérias resistentes. Assim, tem se buscado novas estratégias para o controle de doenças bacterianas com o uso de aditivos alimentares.

### 1.2.1 *Imunoestimulantes e Fitoterápicos*

Um imunoestimulante é uma substância que aumenta os mecanismos de defesa ou resposta imune (inata e adaptativa) dos animais, tornando-os assim mais resistentes a doenças e agressões externas (ANDERSON, 1992). Os imunoestimulantes podem ser obtidos de várias fontes naturais ou por síntese química dos produtos naturais, sendo derivados de microrganismos, parede celular de diversas bactérias, fungos, micro e macroalgas. Entre os compostos ativos capazes de gerar imunoestimulação estão os fragmentos peptídeoglicanos, os lipopolissacarídeos, lipopeptídeos, polissacarídeos sulfanados, aciloligopeptídeos, peptídeos bacterianos específicos e  $\beta$ -glicana (BARRACCO; PERAZZOLO; ROSA, 2008).

Atualmente existem estudos que avaliam a ação de fitoterápicos na carcinicultura como imunoestimulantes frente a infecções causadas por *Vibrios* e vírus. A utilização de extrato das macroalgas *Saragassum wightii*, *Chaetomorpha antennina*, *Enteromorpha flexuosa* (IMMANUEL et al., 2012; THANIGAIVEL et al., 2014; VELMURUGAN et al., 2015). E extrato de microalgas *Porphyridium cruentum* e *Chaetoceros calcitrans* adicionadas à ração (OZÓRIO, 2013; SERASPE et al., 2014), promoveram aumento do ganho de peso e

resistência ao *Vibrio alginolyticus* e uma maior sobrevivência frente ao *Vibrio Harvey*, respectivamente.

### 1.2.2 Ácidos orgânicos

Hoje em dia vêm se aumentando as pesquisas usando como aditivo alimentar os ácidos orgânicos e seus sais. Os ácidos orgânicos agem principalmente sobre as bactérias Gram-negativas. Os ácidos em sua forma não ionizada penetram pela parede celular das bactérias, causando um desequilíbrio iônico no interior da célula bacteriana, levando a sua morte por exaustão (LÜCKSTÄDT, 2008; DEFOIRDT et al., 2009). Eles também podem diminuir a absorção de ferro pelas bactérias patogênicas por formarem complexos quelantes, inibindo seu crescimento (JONES, 1998; CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

Ainda são poucos os estudos com camarões que testam ácidos orgânicos, mas as pesquisas já realizadas avaliando a suplementação na dieta com citrato de sódio, formiato de cálcio, acetato, butirato, lactato, propionato de sódio, separadamente ou como um mix de sais, demonstraram o aumento na sobrevivência e no crescimento dos animais, e maior resistência à infecção por vibrios (LÜCKSTÄDT, 2008; SILVA et al, 2013; ROMANO; KOH; NG, 2015).

### 1.2.3 Probióticos

Os probióticos são usados há muito tempo na produção animal, mas há alguns anos começaram a ser usados na aquicultura. Existem várias definições de probiótico, sendo que uma das mais aceitas na aquicultura é a de Gatesoupe (1999): “probiótico é qualquer microrganismo vivo que, ao ser ministrado, coloniza o trato digestório dos animais de cultivo com o objetivo de melhorar a saúde destes animais”.

Existem duas formas de administrar os probióticos: na água de cultivo ou via alimentação. As cepas de bactérias mais utilizadas como probiótico são dos gêneros *Bacillus*, *Vibrios* e bactérias ácidos lácticas (VIEIRA, 2010).

As pesquisas demonstram que os probióticos aumentam a sobrevivência (LIU et al., 2010) e diminuem a concentração de *Vibrios sp* presente na microbiota intestinal (BOONTHAI; VUTHIPHANDCHAI; NIMRAT, 2011; RAMÍREZ et al., 2013).

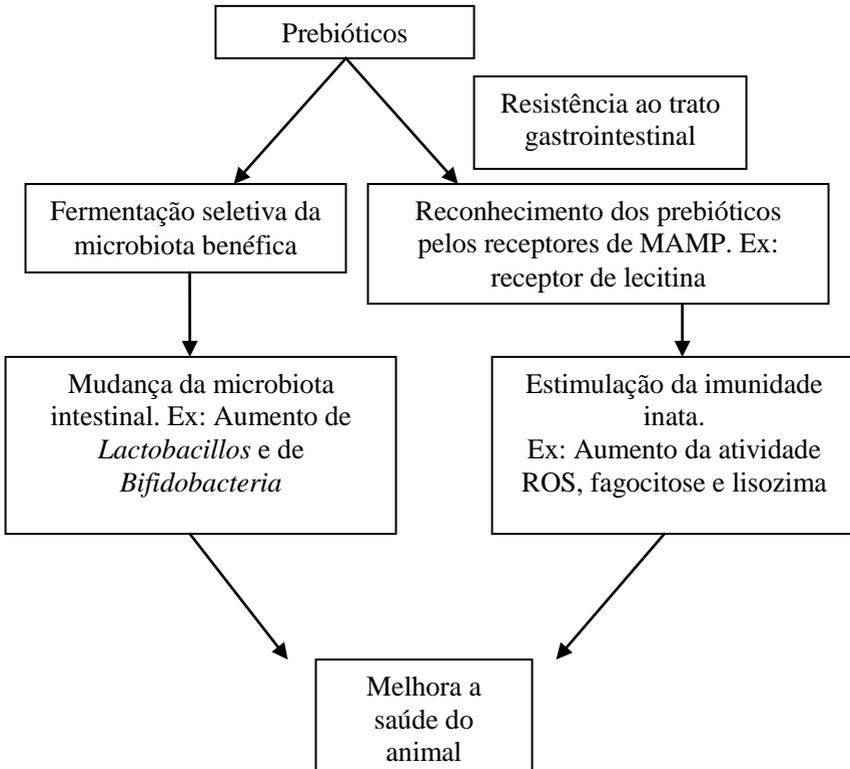
Também podem aumentar a resposta imune (NAVINCHANDRAN et al., 2014), a resistência à infecção por

patógenos (ZOKAEIFAR et al., 2012) e melhoram os parâmetros de qualidade de água (WU et al., 2014; KRUMMENAUER et al., 2015).

#### **1.2.4 Prebióticos**

Os prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digestíveis (fibras), que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando o crescimento e a atividade de um determinado número de bactérias no intestino (GIBSON, ROBERFROID, 1995). Para um composto ser considerado prebiótico, ele tem que cumprir alguns pressupostos como: resistir á hidrólise ácida e enzimática do trato intestinal, ser um substrato seletivo para o crescimento de bactérias benéficas, induzindo a efeitos benéficos na saúde do animal (GIBSON, ROBERFROID, 2008; O'SULLIVAN et al., 2010).

Os prebióticos iram servir como fonte de energia para as bactérias intestinais podendo ser chamado de sacarídeos (ROBERFROID, 1993). Existem alguns trabalhos, em vertebrados, que sugerem a ação de um imunosacarídeos que agem de forma direta no sistema imune inato, sem a necessidade dos probióticos (KOCHER, 2004). Entretanto, estes prebióticos não é necessariamente um imunoestimulante e vice e versa. A atividade imunomoduladora do prebióticos é mediada pelas interações com os receptores de reconhecimento padrão (PRR) das células, os quais são expressos em macrófagos que ligam a receptores de transdução de sinal como NF-kB que estimulam a resposta imune (SONG et al., 2014). Este sacarídeo também pode interagir com PRRs sob a forma de micróbio associado padrões moleculares (mAmps), tais como proteína glicosilada ou o polissacarídeo capsular de bactérias, desencadear uma resposta imune (SONG et al., 2014). Contudo, em crustáceos, que carecem de sistema imune adaptativo, ainda não está bem definido como os prebióticos podem agir na modulação do sistema imunológico. Desta forma, o prebiótico pode agir de duas maneiras: através da estimulação direta do sistema imune inato, ou através do aumento do crescimento da microflora do trato intestinal (SONG et al., 2014) (Figura 2).

**Figura 2:** Modo de ação dos prebióticos.

Fonte: Adaptado de O'sullivan et al. (2010) e Song et al. (2014).

Os prebióticos são encontrados em açúcares absorvíveis ou não, fibras, peptídeos, proteínas, álcoois de açúcares e oligossacarídeos (BARATA, 2012). Os prebióticos mais estudados e usados na aquicultura são os oligossacarídeos como o frutoligossacarídeo (FOS), glucoligossacarídeo (GOS), mananoligossacarídeo(MOS) e os polissacarídeos, como a inulina e as  $\beta$ -glucanas (SONG et al. 2014).

Existem alguns estudos com prebióticos em camarão. Ramirez et al. (2013) avaliaram os efeitos da suplementação de 5 g. kg<sup>-1</sup> de inulina administrada individualmente e em conjunto com o probiótico. Neste trabalho foi observado que os efeitos simbióticos da inulina com o probiotico são capazes de mudar a microbiota gastrointestinal, e aumentar a resposta imune frente ao *Vibrio alginolyticus*. Contudo, a inulina sozinha não aumentou a resistência a este patógeno e nem o

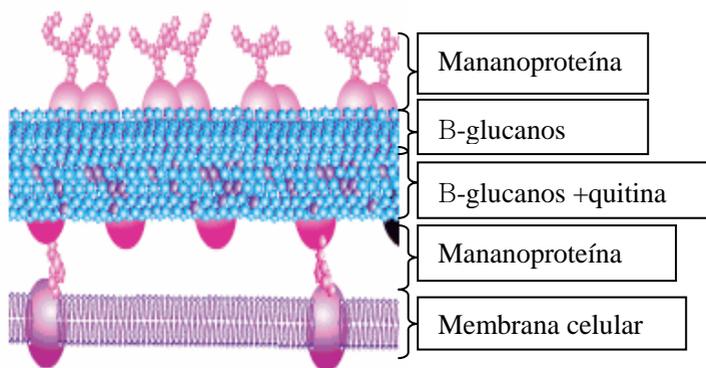
crescimento do camarão *L. vannamei*. Zhang et al. (2012) e Cuong et al. (2013) utilizando 4 g. kg<sup>-1</sup> de mananogossacarídeo (MOS) na ração do camarão marinho *L. vannamei*, observaram uma diminuição na concentração de *Vibrios* spp na microflora intestinal, aumento no ganho de peso semanal do camarão e maior resistência ao estresse por amônia e frente ao desafio experimental por *Vibrio harveyi*, respectivamente.

#### 1.2.4.1 Mananoproteína (MP)

O MOS, quando ligado a uma proteína, forma um complexo chamado de Mananoproteína (MP) (MORALES-LÓPEZ et al., 2009). Portanto, a MP é um prébiótico, derivado da parede celular da levedura (PCL) *Saccharomyces cerevisiae*. A PCL é composta por três partes: 1) a glucana (1,3- $\beta$  e 1,6- $\beta$  glucano), que compõe de 50 a 60% da PCL, 2) a quitina, de 1 a 10% da PCL e 3) a mananoproteína, de 30-40% da PCL (MORENO et al., 2008).

A distribuição destes componentes está organizada em duas camadas principais, sendo a externa composta de mananoproteínas e tendo a função de reconhecimento, interações célula/célula e interações com o ambiente que determinam a especificidade imunológica da levedura. A camada interna, composta por  $\beta$ -glucanos e quitina, é responsável pela rigidez da parede celular e define sua forma (GARCIA, 2008; GOMES, 2009), sendo sua estrutura interconectada por ligações covalentes (apud BARATA, 2012) (Figura 3).

**Figura 3:** Composição da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.



Fonte:<http://www.sigmaaldrich.com/technicaldocuments/articlesbiofiles/antifungals.html>)

As mananoproteínas possuem funções enzimáticas e estruturais na levedura, e também possuem uma importante ação biológica em aves e suínos, em nível intestinal, aumentando a resposta imune, estimulando o crescimento e melhorando a conversão alimentar (MAIORKA et al., 2001; DAVIS et al., 2004; IGLESIAS-HERNÁNDEZ et al., 2013). A MP são polipeptídeos altamente glicosilados que formam estruturas de grande porte no exterior da parede celular da levedura (LIPKE; OVALLE, 1998). Muitas mananoproteínas na levedura apresentam glicanos ligados ao nitrogênio com uma estrutura de manose e glicosaminaglicanos (LIPKE; OVALLE, 1998). As mananoproteínas são constituídas de 50 a 200 unidades de manose, com ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,6,  $\alpha$ -1,2 e  $\alpha$ -1,3. (LIPKE; OVALLE, 1998)

Estudos usando as frações de leveduras ricas em mananos apresentam efeito benéfico sobre a saúde e a produtividade animal (GENC et al., 2007; TORRECILLAS et al., 2013; EDWARDS et al., 2014). O prebiótico mais usado rico em manano são os mananoligossacarídeo. A parte manano deste prebiótico atua nas bactérias Gram-negativas por dois mecanismos: aglutinação das fímbrias tipo I e modulação da resposta imune do hospedeiro, sendo o primeiro aparentemente o mais discutido na literatura (COSTA, 2014). A colonização intestinal é reconhecida como ponto inicial da infecção bacteriana nos enterócitos; as lectinas manose-específicas das fímbrias tipo I das bactérias reconhecem e se ligam às glicoproteínas nas células do hospedeiro (ricas em manose) (MORAN, 2004). Desta forma, ocorre o bloqueio competitivo das lectinas das fímbrias bacterianas, impedindo o primeiro a infecção bacteriana dos enterócitos (MORAN, 2004).

Como a mananoproteína (Actigen®™) é um produto derivado do mananoligossacarídeo, faz com que a estrutura do MOS responsável pela aglutinação de bactérias seja fornecida de forma concentrada, aumentando assim a probabilidade da ligação prebiótico-bactéria e minimizando as interações de bactérias Gram- negativas com os enterócitos (HOOGE et al., 2013).

#### **1.2.4.1.1 Uso de Mananoproteína na alimentação animal**

Estudos que avaliam o uso de mananoproteína (MP) como aditivo alimentar na alimentação animal são escassos e, até o presente, não foram encontrados estudos na literatura que avaliem seu uso na aquicultura.

Os poucos estudos publicados foram realizados com frangos e suínos. Onde a inclusão de 0,4 g. kg<sup>-1</sup> de MP na ração e sua associação ao antibiótico Halquinol não resultou na melhoria dos parâmetros zootécnicos de frangos (BARATA, 2012). Contudo, o MP teve um efeito protetor da integridade intestinal dos frangos (BARATA, 2012). O mesmo foi observado por Moralez-López et al. (2009), onde a ração de frango de corte foi suplementada com 95 mg. kg<sup>-1</sup> até 190 mg. kg<sup>-1</sup>, apresentando apenas aumento nas vilosidades intestinais do trato digestivo.

Em estudos realizados com suínos, observou-se menor prevalência da *Salmonella* na carcaça pré-abate em suínos alimentados com 1,6 g/kg no desmame (0-35 dias), 0,8 g/kg de MP na ração de 36 a 50 dias e 0,4 g/kg de 51 a 100 dias (COSTA, 2014). Adicionalmente, houve aumento do crescimento e incremento da carcaça em suíno alimentado com 0,4 g/ kg (0 a 38 dias) e 0,2 g/ kg (39 a 80 dias) de MP na ração (EDWARDS et al., 2014).

## **2 JUSTIFICATIVA**

O sistema de bioflocos é um cultivo biosseguro, no entanto, apresenta alto custo de implantação e produção. Para a viabilização deste sistema em escala comercial, faz-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que diminuam estes custos e melhorem os índices produtivos do sistema. Neste contexto, pesquisas com a utilização de prebióticos, como a mananoproteína, em sistema de bioflocos, são promissoras. Os prebióticos podem atuar como moduladores da microbiota intestinal dos camarões, incrementando indiretamente os parâmetros zootécnicos (sobrevivência, crescimento, ganho de peso, conversão alimentar, produtividade e tempo de cultivo). Desta forma, fica demonstrada a importância de pesquisa utilizando os prebióticos no sistema de cultivo de bioflocos.

## **3 HIPÓTESE**

A suplementação na dieta com mananoproteínas resultará em melhor desempenho zootécnico, aumento das vilosidades intestinais e diminuindo a concentração de bactérias vibrionáceas na microbiota intestinal de *L. vannamei* cultivado em sistema de bioflocos.

## 4 OBJETIVO

### 4.1 Objetivo geral

Contribuir para o desenvolvimento do cultivo de camarão *L. vannamei* em sistema superintensivo de bioflocos através da avaliação da suplementação dietética com mananoproteínas.

### 4.2 Objetivo específico

Avaliar o uso de dieta suplementada com diferentes concentrações ( $0,2 \text{ g. kg}^{-1}$ ,  $0,8 \text{ g. kg}^{-1}$ ,  $1,2 \text{ g. kg}^{-1}$ ) de mananoproteínas no cultivo de *L. vannamei* em sistema superintensivo bioflocos microbianos sobre:

- O desempenho zootécnico dos camarões (sobrevivência, eficiência alimentar, ganho de peso e produtividade);
- Os parâmetros morfométricos das vilosidades intestinais dos camarões.
- A contagem bacteriana do intestino de camarões.

## **5 FORMATAÇÃO DA DISSERTAÇÃO**

Esta dissertação está dividida em duas partes: a primeira introdutória, referente à revisão bibliográfica sobre o tema, a justificativa e os objetivos do trabalho. A segunda parte é um artigo científico, formatado de acordo com as normas da revista “Aquaculture Engineering”, referente à pesquisa realizada sobre o tema apresentado.

## **ARTIGO CIENTÍFICO**

### **Efeitos benéficos da suplementação de mananoproteína no cultivo de camarão branco do Pacífico m sistema de bioflocos.**

Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: marysol\_sr@hotmail.com

## 6 ARTIGO CIENTIFICO

### 6.1 Resumo

Foi avaliado o uso do prebiótico mananoproteína (MP) na dieta de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema superintensivo com bioflocos. Foram formuladas três dietas com diferentes concentrações de MP (0,2g. kg<sup>-1</sup>; 0,8g. kg<sup>-1</sup>; 1,2g. kg<sup>-1</sup>) e o grupo controle sem a suplementação de MP. O experimento consistiu em uma engorda na densidade de 400 camarões. m<sup>3</sup>, sendo que o peso médio inicial dos camarões era de 3,64 ± 0,07g. Foram avaliados os parâmetros de qualidade de água, microbiota intestinal, histologia do intestino médio e índices zootécnicos. O delineamento experimental foi totalmente casualizado em triplicata. Os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia durante 65 dias. Ao final do experimento, não foi observada diferença nos parâmetros de qualidade de água em nenhum tratamento (p<0,05). As vilosidades intestinais apresentaram maior área de superfície interna nos animais alimentados com dieta suplementada com 0,08% e 0,12% de MP (p<0,05). Os camarões que receberam a dieta contendo MP, obtiveram cerca de 10% a mais na sobrevivência em relação aos camarões alimentados com a dieta controle (p<0,05). Não foi observada diferença estatística nos demais parâmetros zootécnicos avaliados (peso final, ganho de peso semanal, biomassa final, eficiência alimentar). Sendo assim a suplementação da dieta com mananoproteína nas diferentes concentrações, ocasionou uma melhora na sobrevivência dos camarões e aumento na área de superfície do intestino médio.

**Palavras-chave:** *Litopenaeus vannamei*, prebiótico, levedura, microbiota intestinal, morfologia intestinal, cultivo superintensivo, cultivo mixotrófico.

## 6.2 Abstract

This study aimed to evaluate the use of mannoprotein prebiotic (MP) in the diet of *Litopenaeus vannamei* grown in super intensive bioflocs system. For this, three diets were formulated with different concentrations of MP (0.2 g. kg<sup>-1</sup>, 0.8 g. kg<sup>-1</sup>, 1,2 g. kg<sup>-1</sup>) and the control group without supplementation MP. The experiment consisted of a fattening in bioflocs with density of 400 shrimps/m<sup>3</sup> and the shrimps presented the initial weight of 3.64 ± 0.07g. It was evaluated the parameters of water quality, intestinal microbiota, the midgut histology, and biological indices. The experimental design was completely randomized in triplicate. Shrimps were fed four times a day for 65 days. At the end of the experiment, there was no difference in the water quality of the parameters in any treatment (p<0,05). The intestinal villi had greater internal surface area in the fed with the diet supplemented with 0.08% and 0.12% of MP (p<0,05). In technical aspects, there was a higher survival (10%) in the treatments in which shrimps were fed with diet containing MP, compared to the control (p<0,05). There was no statistical difference in the remaining performance parameters (final weight, weekly weight gain ,final biomass, food conversion ratio (FCR)). Thus, supplementing the diet with mannoprotein at different concentrations has shown an improvement in survival of shrimps and an increase in the surface area of the midgut.

**Keywords:** *Litopenaeus vannamei*, prebiotic, yeast, intestinal microbiota, intestinal morphology, mixotrophic cultivation

### 6.3 Introdução

Dentre as espécies de camarões cultivados atualmente, destaca-se o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, que representou 74% de todo camarão cultivado em 2013 (FAO-FISHSTAT, 2015). Embora o cenário produtivo global apresente expressivo crescimento (FAO, 2014), é comum que ocorram perdas regionalizadas na produção, causando prejuízos aos produtores e na economia dos locais afetados (SHEKAR; PRADEEP; KARUNASAGAR, 2012). As enfermidades virais e bacterianas são as principais causas de prejuízo na carcinicultura. Estas são desencadeadas pelo uso de pós-larvas infectadas, eventos climáticos adversos à espécie, deficiências nutricionais, compostos tóxicos na água, eutrofização e acúmulo de matéria orgânica (KAUTSKY et al., 2000).

Recentemente foi descoberta a doença AHPNS (*Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome*), causada pelo *Vibrio parahaemolyticus* (TRAN et al., 2013). Esta doença tem causado mortalidades massivas de camarão branco do Pacífico em cativeiro e conseqüentemente prejuízos na China, Vietnã, Malásia, Tailândia (LIGHTNER, 2012a) e México (NUNAN et al., 2014).

O tratamento as infecções bacterianas com a utilização indiscriminada de antibióticos pode promover a seleção de cepas resistentes, o que dificulta o controle destas enfermidades (OANH, 2014). Uma das alternativas ao uso de antibióticos é o emprego de aditivos alimentares (SILVA et al. 2013). Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas em pequenas quantidades, que melhoram as características do alimento ou dos produtos animais (ROSEN, 1996; FAO, 2001). Entre os diversos tipos de aditivos utilizados, os prebióticos atuam como moduladores da mucosa intestinal, favorecendo o desenvolvimento de bactérias benéficas e reduzindo a colonização das espécies patogênicas (SAAD, 2006).

Os prebióticos são de mais fácil suplementação na ração e possuem baixo custo de produção, quando comparados aos probióticos (RINGO et al., 2010). Eles são ingredientes não digestíveis que afetam benéficamente a microbiota intestinal do hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e/ou a atividade de algumas bactérias, melhorando assim a saúde do hospedeiro (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Os prebióticos mais utilizados na aquicultura são os oligossacarídeos frutoligossacarídeo (FOS), glucoligossacarídeo (GOS), mananoligossacarídeo (MOS) e os polissacarídeos inulina e  $\beta$ -glucanas (SONG et al. 2014). Podem aumentar o tamanho das vilosidades e

microvilosidades intestinais, aumentar a atividade do sistema imunológico e impactar positivamente nos parâmetros zootécnicos de peixes e camarões (ZHANG et al., 2012; TORRECILLAS et al., 2013; SANG; KIEN; THUY, 2014).

Apesar desses estudos promissores sobre o uso de prebióticos na aquicultura, a mananoproteína (MP), derivada da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e formada pela junção de uma proteína com um mananoglicosídico (MOS) (MORALES-LÓPEZ et al., 2009), ainda não foi avaliada no cultivo de camarões. Estudos realizados com aves, que avaliaram a ação da MP, demonstram melhora na conversão alimentar, aumento no crescimento, sobrevivência (MATHIS et al., 2012), e nos parâmetros imunológicos, além de melhora na integridade do trato intestinal (MORALES-LÓPEZ et al., 2009). Já em suínos, não foram observadas diferenças nos parâmetros zootécnicos, mas houve redução na soroprevalência de *Salmonella* na carcaça do animal (COSTA, 2014).

Além do uso de aditivos alimentares, outro modo de conter a incidência de doenças (POERSCH et al., 2012) e aumentar a produtividade no cultivo de camarões e peixes é o uso do sistema de bioflocos (AVNIMELECH, 1999). Neste sistema, observa-se aumento da produtividade, devido ao aumento da densidade de cultivo, por causa do melhor controle dos compostos nitrogenados feito pelas bactérias heterotróficas (AVNIMELECH, 1999; EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006) e quimioautotróficas, presentes nos bioflocos microbianos (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006). Neste sistema de cultivo, a possibilidade de entrada de vetores e patógenos é reduzida, em razão da mínima renovação de água necessária para manter a qualidade de água para os animais cultivados. (CRAB et al., 2010).

A maioria dos estudos com aditivos alimentares vem testando probióticos no sistema de criação com bioflocos, até o presente momento não há na literatura trabalhos que testam o uso de prebióticos na nutrição de camarão criado em sistema de bioflocos. Não obstante, também não é conhecido o efeito do prebiótico mananoproteína na carcinicultura. Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar se a suplementação da dieta com mananoproteínas resultará em melhor desempenho zootécnico, aumento das vilosidades intestinais e diminuindo a concentração de bactérias vibrionáceas na microbiota intestinal de *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema de bioflocos.

## 6.4 Material e métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), na região Sul do Brasil, no período de julho a setembro de 2014, tendo duração de 65 dias.

### 6.4.1 Material biológico

A pesquisa foi desenvolvida com a espécie de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, livre de patógenos específicos (SPF- *Specific Pathogen Free*) de notificação obrigatória pela Organização Mundial de Saúde Animal). Os animais foram adquiridos da Aquatec LTDA, localizada em Canguaretama, Rio Grande do Norte, Brasil. Os camarões foram cultivados em sistema de bioflocos até atingirem o peso médio inicial de  $3,64 \pm 0,07$  g.

### 6.4.2 Preparação das dietas experimentais

Foram formuladas cinco dietas experimentais com 39% de proteína bruta (Tabela 1) com base nas recomendações e exigências nutricionais para *Litopenaeus vannamei* (FOX et al., 1995; NRC, 2011; ZHOU et al., 2012). Essas dietas foram formuladas com o auxílio do software Feedsoft® Professional, versão 3.14 (Feedsoft Corporation, Richardson, TX, USA).

Os ingredientes secos da dieta foram previamente moídos e peneirados (600  $\mu\text{m}$ ). Macro e microingredientes foram misturados separadamente até formarem uma mistura homogênea. Posteriormente os microingredientes foram adicionados aos macroingredientes e misturados por 10 min em misturador horizontal (Inbramaq, modelo 2129). Logo após, esta mistura foi colocada em uma batadeira (G. Paniz, modelo BP 20C) onde foram adicionados o óleo de fígado de bacalhau, óleo de soja e a lecitina de soja. Foi então retirada uma amostra de 0,5 g para determinação do teor de umidade, mensurada em um analisador de umidade (Ohaus, modelo MB 45). Com bases no resultado do teor de umidade, adicionou-se água até atingir entre 20 a 23% de umidade, realizando-se nova mistura por 10 min. A massa resultante foi extrusada a 85 °C em uma extrusora com capacidade de 40 kg.h<sup>-1</sup> (Inbramaq, modelo MX40). Após este processo, a ração foi seca em estufa (Tecnal, modelo TE - 394/3) com renovação e circulação de ar a 50°C até atingir 8% de umidade (Anexo 1). A mananoproteína (Actigen®) (Anexo 2) foi

adicionada à mistura substituindo o caulim, utilizado como ingrediente de preenchimento.

**Tabela 1:** Formulação e composição das dietas experimentais para juvenil de camarão marinho *L. vannamei*, com suplementação crescente de Mananoproteína (MP).

Ingredientes (g. kg <sup>-1</sup> )	Mananoproteína, g. kg <sup>-1</sup>			
	Controle (0,00)	0,2	0,8	1,2
Farelo de soja	450,0	450,0	450,0	450,0
Farinha de resíduo de salmão	190,0	190,0	190,0	190,0
Farinha de trigo	150,0	150,0	150,0	150,0
Caulim	90,0	89,8	89,2	88,8
Lecitina de soja	30,0	30,0	30,0	30,0
Fosfato monocálcico	20,0	20,0	20,0	20,0
Cloreto de sódio	15,0	15,0	15,0	15,0
Sulfato de magnésio	15,0	15,0	15,0	15,0
Premix vitamínico-mineral <sup>1</sup>	13,5	13,5	13,5	13,5
Óleo de fígado de bacalhau	10,8	10,8	10,8	10,8
Óleo de soja	10,0	10,0	10,0	10,0
Carboximetilcelulose	5,0	5,0	5,0	5,0
Vitamina C	0,7	0,7	0,7	0,7
Mananoproteína <sup>2</sup>	0,0	0,2	0,8	1,2
<b>Composição centesimal (% , expressa na matéria seca)</b>				
Umidade	9,4	8,0	8,4	6,9
Proteína bruta	43,7	43,3	42,7	42,8
Cinzas	18,7	18,6	18,7	18,7
Extrato etéreo	8,7	8,4	8,6	9,0
Fibra bruta	4,4	5,4	6,3	3,7

<sup>1</sup>Níveis de garantia por kg do produto (segundo o fabricante): vitamina A, 1.250.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 350.000 UI; vitamina E, 25.000 UI; vitamina K<sub>3</sub>, 500,0 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 5.000,0 mg; vitamina B<sub>2</sub>, 4.000,0 mg; vitamina B<sub>6</sub>, 10,0 mg; ácido nicotínico, 15.000,0 mg; ácido pantotênico, 10.000,0 mg; biotina, 150,0 mg; ácido fólico, 1.250,0 mg; vitamina C, 25.000,0 mg; colina, 50.000,0 mg; inositol, 20.000,0 mg; ferro, 2.000,0 mg; cobre, 3.500,0 mg; cobre quelado, 1.500,0 mg; zinco, 10.500,0 mg; zinco quelado, 4.500,0 mg; manganês, 4.000,0 mg; selênio, 15,0 mg; selênio quelado, 15,0 mg; iodo, 150,0 mg; cobalto, 30,0 mg; cromo, 80,0 mg; veículo, 1.0000,0g; <sup>2</sup>Alltech Brasil Agroindustrial Ltda (Araucária, PR, Brasil).

### 6.4.3 Delineamento experimental e unidades experimentais

O experimento consistiu no cultivo de camarões em sistema de bioflocos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três réplicas, sendo testadas três concentrações de mananoproteína ( $0,2\text{g. kg}^{-1}$ ,  $0,8\text{g. kg}^{-1}$  e  $1,2\text{g. kg}^{-1}$ ) na dieta e o grupo controle sem a inclusão da mananoproteína.

O cultivo foi realizado dentro de estufa retangular coberta com filme de polietileno de  $20\ \mu$ . Foram utilizadas 12 unidades experimentais (tanque circular de polietileno com fundo plano e volume útil de 800 L) (Anexo 3).

Cada tanque estava equipado com aquecedor elétrico de titânio (800 W), controlado por termostato (Fullgauge®, modelo MT511Ri); anel central de aeração no fundo, feito com 40 cm de mangueira microporosa e alimentado por soprador radial elétrico; bandeja para alimentação de camarões (WASIELESKY et al., 2006); seis substratos artificiais submersos por tanque, equivalente a 100% de área de superfície do tanque (SCHVEITZER et al., 2013a); tanque de decantação de sólidos com volume de 20 L (Anexo 4).

Todos os tanques foram preenchidos com água de bioflocos maduro proveniente de um tanque matriz, com salinidade  $35\ \text{g. L}^{-1}$ , alcalinidade  $156\ \text{mg. L}^{-1}$ , pH 7,86, amônia  $0,4\ \text{mg. L}^{-1}$  e nitrito  $0,1\ \text{mg. L}^{-1}$ . Cada unidade foi povoada com 320 camarões de peso médio de  $3,64 \pm 0,07\ \text{g}$ , resultando na densidade inicial de cultivo de  $400\ \text{camarões m}^{-3}$ .

Na primeira semana, os tanques foram fertilizados diariamente com melaço de cana-de-açúcar, mantendo-se a relação carbono/nitrogênio (C/N) 12/1 (AVINMELECH, 2012). O melaço era composto de 55% de carboidratos redutores e 2,7% de proteínas, e a ração utilizada possuía 42,7% a 43,7% de proteína bruta. Sendo que, foi considerado teor de 40% de carbono nos carboidratos, 50% de carbono na ração e 16% de nitrogênio nas proteínas da ração e do melaço (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006).

A quantidade de melaço diária era dividida em duas aplicações uma de manhã e outra de tarde. A alcalinidade foi mantida acima de  $120\ \text{mg.L}^{-1}\ \text{CaCO}_3$  com aplicação do cal hidrata.

A alimentação foi fornecida de acordo com a tabela de Van Wyk e Scarpa (1999). Inicialmente os animais foram alimentados com o equivalente a 6% da biomassa e esta quantidade foi ajustada semanalmente de acordo com as biometrias. A ração foi fornecida quatro vezes ao dia (9:00; 12:00, 12:00, 17:00 h), sendo colocado aproximadamente 30% da quantidade total na bandeja e o restante,

oferecido a lanço. Após 1,5 h, a bandeja era checada para registro das sobras (BALOI et al., 2012). As biometrias foram realizadas semanalmente, com um número amostral de 32 camarões por tanque.

#### **6.4.4 Análise dos parâmetros indicadores da qualidade de água**

Durante o experimento, o oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram mensurados duas vezes ao dia (08:30 e 16:30 h) com oxímetro YSI 5908<sup>®</sup>. A salinidade foi medida uma vez por semana com refratômetro (Instrutherm<sup>®</sup>). Duas vezes por semana, foram analisados a transparência da água (disco de Secchi), e os sólidos sedimentáveis (SS), medido com auxílio de Cone Imhoff (AVNIMELECH, 2007), pH (pHmetro YSI 100<sup>®</sup>), alcalinidade, a qual foi medida por titulação (APHA, 2005- 2320 B), amônia total (STRICKLAND; PARSONS 1972), nitrito e fosfato inorgânico dissolvido (STRICKLAND; PARSONS 1972), nitrato por Kit de análise (HACH<sup>®</sup>, método 8039 de redução do nitrato com cádmio) em espectrofotômetro (HACH<sup>®</sup>, modelo DR 2800).

Os sólidos suspensos totais (SST) (APHA 2005-2540 D) e sólidos suspensos voláteis (SSV) (APHA 2005-2540 E) foram medidos pelo método gravimétrico, duas vezes por semana. A análise de clorofila-a (APHA 2005-10200 H) foi realizada uma vez por semana. As leituras foram feitas com espectrofotômetro (HACH<sup>®</sup>, modelo DR 2800), em cubeta de quartzo com 5 cm de caminho ótico. Para análise de SST, SSV e clorofila-a, foi utilizado microfiltro de fibra de vidro com porosidade de 0,6  $\mu$  (GF- 6 - Macherey- Nagel<sup>®</sup>).

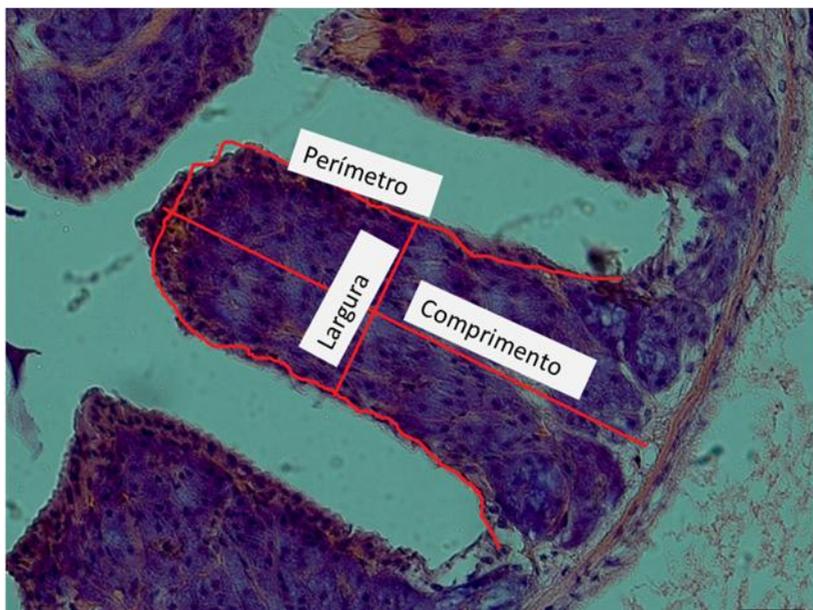
#### **6.4.5 Análise microbiológica do trato intestinal**

Aos 38 dias e 65 dias de cultivo foram realizadas as amostragens para a análise microbiológica do intestino médio dos camarões. Para tanto, foi formado um *pool* contendo o intestino de cinco camarões por tanque. Os intestinos eram pesados e posteriormente macerados em um graal. Após maceração, foi feita a diluição seriada até 10<sup>6</sup> em solução salina 3% estéril, sendo semeado 100  $\mu$ L em meio de cultura Agar zobell marine (Agar Marine) para contagem de bactérias heterotróficas totais e em meio Agar tiosulfato citrato bile sacarose (TCBS) para contagem de bactérias vibrionáceas.

As placas de Petri semeadas com os meios Agar Marine e TCBS foram incubadas em estufa microbiológica a 30°C. Após 24 h foram efetuadas contagens totais de unidades formadoras de colônia (UFC/g. de intestino).

#### 6.4.6 Análise histológica

Ao término do experimento foi realizada a coleta do intestino de camarão para a mensuração da histomorfometria, onde amostras da região do intestino médio dos camarões foram coletadas de três camarões por unidade experimental. Os fragmentos dos intestinos foram fixados em solução de Davidson por 24 h. Após este período, foram colocadas em álcool 70% até o processamento das amostras. Após a fixação, as amostras foram lavadas e desidratadas em séries crescentes de etanol. Após a desidratação, as amostras foram infiltradas em historesina (Leica Historesin, Heidelberg, Alemanha). Secções com 5  $\mu\text{m}$  de espessura foram coradas com hematoxilina e eosina e fotografadas com o microscópio Epifluorescent (Olympus BX 41), equipado com sistema de captura Image Q Capture Pro 5.1 Software (Qimaging Corporation, Austin, TX, Estados Unidos da América). Com as imagens foram mensurados: comprimento, largura e perímetro das vilosidades ( $\mu$ ) (Figura 4).



**Figura 4:** Modo de medição do perímetro, largura e comprimento do intestino médio de *L. vannamei*.

### 6.4.7 Parâmetros zootécnicos

Após 65 dias, foi realizada uma biometria final de todos os camarões de cada unidade experimental para obtenção dos parâmetros zootécnicos como o indicado abaixo:

- $Ganho\ de\ Peso\ Semanal\ (g\ por\ semana) = \frac{peso\ médio\ final\ (g) - peso\ médio\ inicial\ (g)}{dias\ de\ cultivo} \times 7$
- $Biomassa\ Final\ (kg.\ m^{-3}) = \frac{biomassa\ despescada\ (kg)}{Volume\ do\ tanque\ (m^3)}$
- $Sobrevivência\ (%) = \frac{número\ final\ de\ camarões}{número\ inicial\ de\ camarões} \times 100$
- $Eficiência\ Alimentar\ (EA) = \frac{biomassa\ de\ camarão\ produzida\ (kg)}{ração\ consumida\ (kg)}$

### 6.4.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa R. Todos os dados de parâmetros zootécnicos, análises de qualidade de água, microbiológicos e histológicos foram submetidos ao teste de homocedasticidade (teste de Bartlett). Uma vez verificadas as premissas de homocedasticidade de variância, os dados foram submetidos à análise de variância unifatorial, suplementada pelo teste Tukey de separação de médias, ambas ao nível de significância de 0,05. Antes de serem submetidos às análises estatísticas, os dados de sobrevivência foram transformados para arcoseno<sup>y0,5</sup>, os de análise microbiológica em log10 (x+1).

## 6.5 Resultados e Discussão

### 6.5.1 Parâmetros de qualidade de água

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o grupo controle nos dados de qualidade de água (Tabela 2). Onde todos os parâmetros de qualidade de água se mantiveram dentro do ideal para o cultivo de *L. vannamei* (PONCE-PALAFIX et al., 1997; VAN WYK; SCARPA, 1999; SCHVEITZER et al., 2013b; HARGREAVES, 2013).

**Tabela 2:** Parâmetros de qualidade de água, de engorda experimental de *Litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo de bioflocos microbianos, com dietas suplementadas com Mananoproteína.

Parâmetros	Mananoproteína (g. kg <sup>-1</sup> )			
	Controle	0,2	0,8	1,2
Temperatura (°C)	29,5±0,7	29,32±0,5	29,33±0,5	29,69±0,7
Oxigênio (mg. L <sup>-1</sup> )	5,32±0,38	5,39±0,35	5,38±0,33	5,34±0,31
Salinidade	37±3	36±4	37±2	37±2
pH	7,91±0,22	7,84±0,27	7,89±0,29	7,88±0,28
Amônia total (mg. L <sup>-1</sup> )	0,4±0,2	0,4±0,2	0,4±0,1	0,3±0,1
Nitrito (mg. L <sup>-1</sup> )	0,3±0,2	0,4±0,2	0,4±0,2	0,4±0,2
Nitrato (mg. L <sup>-1</sup> )	36,6±10,4	40,0±11,8	40,7±11,4	40,0±13,4
Ortofosfato (mg. L <sup>-1</sup> )	4,7±0,9	4,4±1,1	4,2±1,1	4,3±0,9
Alcalinidade (mg. L <sup>-1</sup> )	146±32	141±40	145±39	143±36
Clorofila- a (µg. L <sup>-1</sup> )	2,9±27,7	1,9±13,7	2,1±12,8	2,2±9,2
Transparência da água (cm)	13±2	13±3	13±3	13±3
SS <sup>1</sup> (mg. L <sup>-1</sup> )	5,33±2,26	6,58±3,29	5,65±1,97	5,96±3,57
SST <sup>2</sup> (mg. L <sup>-1</sup> )	580±153	568±160	551±127	591±175
SSF <sup>3</sup> (mg. L <sup>-1</sup> )	387±109	364±101	358±85	383±114
SSV <sup>4</sup> (mg. L <sup>-1</sup> )	205±48	215±63	203±48	219±65

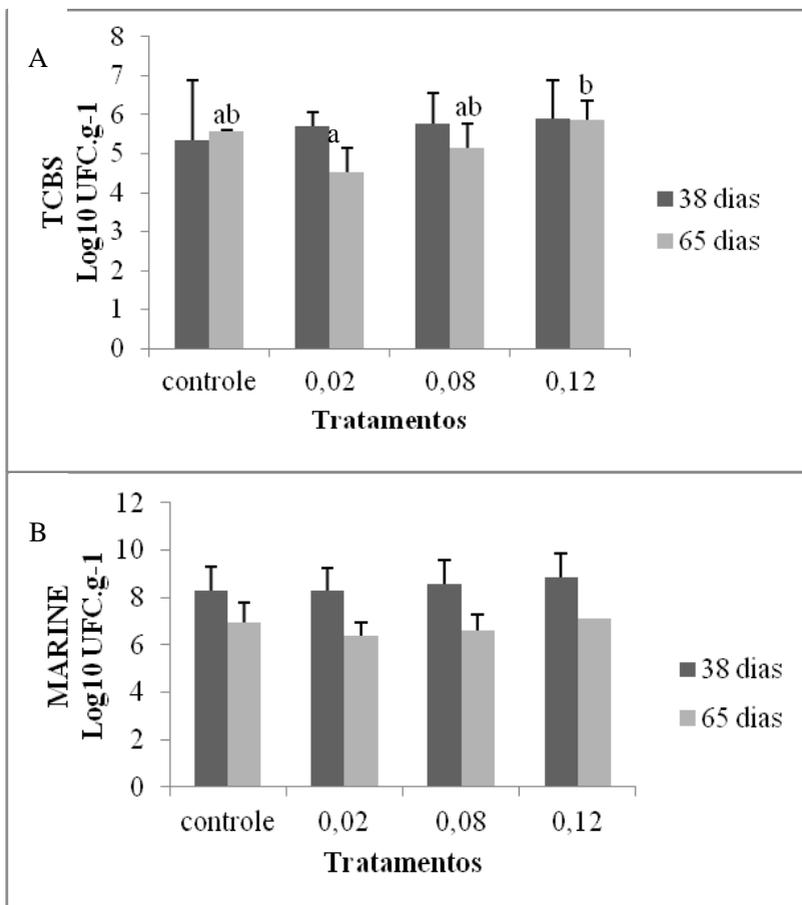
<sup>1</sup>Sólidos sedimentáveis, <sup>2</sup>Sólidos suspensos totais, <sup>3</sup>Sólidos suspensos fixos, <sup>4</sup>Sólidos suspensos voláteis. Não houve diferença estatística significativa pela anova unifatorial.

### 6.5.2 Avaliação microbiológica

A contagem de bactérias heterotróficas totais no intestino médio não mostrou diferença significativa entre o controle e os tratamentos nas duas coletas realizadas (Figura 4). O mesmo foi observado por Ramirez et al. (2013), que não observaram diferença significativa na contagem de bactérias heterotróficas totais da na engorda em água clara de camarão marinho, quando alimentados com dieta contendo o prebiótico inulina, corroborando com os dados encontrados no nosso estudo.

Da mesma forma, não foi observada diferença significativa na quantidade de vibrios entre os tratamentos e o controle, exceto nos animais alimentados com  $0,2\text{g. kg}^{-1}$  MP, os quais apresentaram menor concentração de unidades formadoras de colônias em relação ao tratamento  $1,2\text{g. kg}^{-1}$ . Mesmo tendo apresentado uma diferença na população de *Vibrio* spp., não foi observado um padrão de crescimento da população bacteriana entre os tratamentos e o grupo controle. Isto pode ter ocorrido devido o cultivo ter sido feito em bioflocos, onde nesta forma de cultivo tem-se uma maior concentração de bactérias vibriónaceas presente na água (AGUILERA-RIVERA et al., 2014).

Contudo, os estudos realizados até o momento utilizando prebiótico no carcinicultura foram feitos em água clara. Zhou, Ding, Huiyuan, (2007) utilizando fosfoligossacarido (FOS) viu que nas concentrações 1,2 e  $1,6\text{ g.kg}^{-1}$  tinha uma menor concentração de *V. parahaemolyticus* no trato intestinal de *L. vannamei*. Cuong et al., (2013) usando copra MOS na concentrações de 4 a  $10\text{ g.kg}^{-1}$ , também notou uma diminuição de *Vibrio* spp nos trato intestinal de *L. vannamei*, o mesmo observado por RAMIREZ et al., (2013) adicionando  $5\text{ g. kg}^{-1}$  de inulina na dieta de *L. vannamei*.



**Figura 5:** Concentrações de *Vibrio* spp. (A) e bactérias heterotróficas totais (B) da microbiota intestinal de *L. vannamei* alimentado com dietas suplementas com concentrações diferentes de Mananoproteína, cultivados em bioflocos. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos e o grupo controle, pelo teste de Tukey de separação de médias ( $p < 0,05$ ).

### 6.5.3 Avaliação histológica

Na análise de histomorfometria, houve aumento no comprimento, largura e perímetro das vilosidades intestinais nos tratamentos que receberam a suplementação na dieta com mananoproteína (MP) (Tabela 3). A área do perímetro das vilosidades intestinais aumentou

significativamente em camarões alimentados com dietas suplementadas com 0,8g. kg<sup>-1</sup> e 1,2g. kg<sup>-1</sup> de MP na dieta em relação ao controle (Anexo 5). Este aumento das vilosidades intestinais pode proporcionar uma melhor retenção e aproveitamento dos nutrientes da dieta (SPRING; PRIVULESKU, 1998).

De acordo com Furlan, Macari e Luquetti (2004) este aumento das vilosidades intestinais pode ter ocorrido devido a um agente trófico que estimula o desenvolvimento da mucosa intestinal, ou seja, estimula o processo mitótico na região cripta-vilo, e como consequência aumenta o número de células e tamanho do vilo.

Várias substâncias demonstram agir sobre a mucosa intestinal como o MOS (mananoglicosacarídeos) e FOS (frutoglicosacarídeos), prebióticos, probióticos (ZHANG et al., 2012). Onde eles agem induzindo o mecanismo de transcrição gênica pela ativação de enzimas importantes no processo mitótico na região cripta-vilo (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). Pôr exemplo, a indução da enzima ODC (ornitina Descarboxilase) que é uma enzima importante no processo de proliferação celular parece ocorrer quando da presença de glutamina (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). Sendo a glutamina o aminoácido em maior quantidade no tecido muscular e no plasma, sendo observados importantes efeitos deste aminoácido sobre a reconstituição da mucosa intestinal, pois é o principal substrato para o desenvolvimento dos enterócitos (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Em estudo avaliando a inclusão de mananoglicosacarídeo (MOS) na dieta de *Litopenaeus vannamei* também foi registrado um aumento no comprimento das microvilosidades intestinais com a suplementação de até 2 a 4 g. kg<sup>-1</sup> na dieta (ZHANG et al., 2012). Em outro estudo, também avaliando o efeito do MOS na morfologia intestinal de *Penaeus monodon*, se observou aumento na integridade do trato intestinal com a suplementação de até 1 a 2 g. kg<sup>-1</sup> de MOS (SANG, KIEN, THUY 2014). Frangos alimentados durante 21 dias com uma dieta suplementada com 190 mg. kg<sup>-1</sup> de mananoproteína, também houve o aumento no comprimento das vilosidades intestinais do jejuno (MORALES-LOPEZ et al., 2009). Contudo, não há relato do uso de mananoproteína em espécies aquáticas.

**Tabela 3:** Histomorfometria do trato intestinal do camarão marinho *L. vannamei* cultivado em sistema de superintensivo de bioflocos, alimentado com diferentes concentrações do prebiótico Mananoproteína (MP) durante 65 dias.

Histomorfometria	Mananoproteína (%)			
	Controle (0,00)	0,02	0,08	0,12
Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	381,2 $\pm 176,9^a$	572,1 $\pm 175,8^b$	472,3 $\pm 198,6^{ab}$	440,4 $\pm 147,3^{ab}$
Largura ( $\mu\text{m}$ )	189,07 $\pm 79,48^a$	300,97 $\pm 134,69^b$	282,35 $\pm 95,98^b$	271,24 $\pm 110,42^b$
Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	712,10 $\pm 359,9^a$	837,38 $\pm 322,34^{ab}$	1007,90 $\pm 386,59^b$	1122,20 $\pm 663,72^b$

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey de separação de médias ( $p < 0,05$ ).

#### 6.5.4 Parâmetros zootécnicos

Foi observado um aumento na sobrevivência dos camarões que receberam a suplementação de MP na dieta em relação ao grupo controle. (Tabela 4). Nos demais parâmetros avaliados não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

O aumento na sobrevivência pode estar ligado com os parâmetros imunológicos, pois o receptor de manose presente na MP é um receptor endocítico expresso por macrófagos e células endoteliais que reconhece a própria glicoproteína e ligam ao grupo glicano microbiano (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). As células dendríticas imaturas também podem expressar este receptor de manose que facilita a captação de antígenos glicosilados com alta eficiência microbiano (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). Quando ocorre esta ligação com a manose ocorre uma indução intracelular da cascata de sinalização que podem aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias microbiano (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

O MOS por possuir manose é o mais documentado nos animais terrestre como um bom aditivo alimentar, mas também já tem trabalhos na aquicultura avaliando o seu efeitos como um imunoestimulante. A suplementação na dieta com outro prebiótico como o copra MOS em até de 3 g.  $\text{kg}^{-1}$  ração para pós-larvas de camarão *Penaeus semisulcatus* melhorou a sobrevivência e o ganho de peso final em relação aos animais não suplementados (GENC et al., 2007). Torrecillas et al.,

(2013) notaram um aumento na sobrevivência, ganho de peso final em robalos europeus (*Dicentrarchus labrax*) com ração contendo 4 g. kg<sup>-1</sup>. Contudo, outros estudos utilizando prebióticos como inulina, frutoligossacarídeo (FOS), não registraram diferença estatística nos parâmetros zootécnicos (LUNA-GONZÁLES et al., 2012; RAMIREZ et al., 2013; ANUTA et al. 2014). Em pesquisas realizadas com suplementação de MP para aves e suínos, observou-se que ela age principalmente como promotor de crescimento, através da modulação do sistema imunológico e do trato intestinal (HOOGER, CANNOLLY, 2011; EDWARDS et al., 2014).

Porém, cultivos de camarões com altas densidades de estocagem (acima de 300 camarões m<sup>-3</sup>) podem ser prejudiciais ao crescimento dos camarões. Krummenauer et al. (2011) usando uma densidade de 450 camarões por m<sup>-3</sup>, teve uma sobrevivência de 75,0± 3,74 e com um ganho de peso semanal de 0,47±0,09 g. Os índices de sobrevivência obtido por estes autores são similares aos nossos resultados para o grupo controle. Contudo, a adição de MP na dieta incrementou a sobrevivência dos camarões em cerca de 10%. Outro estudo de engorda de *Litopenaeus vannamei*, utilizando densidade de 459 m<sup>-3</sup>, apresentou sobrevivência de 82,9 ±1,6 % com um ganho de peso semanal de 0,64±0,08 g (SCHVEITZER et al., 2013b). A sobrevivência deste estudo é semelhante à encontrada no presente trabalho, contudo o ganho de peso aqui foi mais elevado, sugerindo que a elevada densidade de cultivo pode ter afetado no ganho de peso semanal e demonstra-se assim que a adição de MP na dieta aumentou a sobrevivência dos camarões, não tendo diferença estatística nas doses crescente de MP.

**Tabela 4:** Parâmetros zootécnicos da engorda experimental de *Litopenaeus vannamei*, em sistema superintensivo de bioflocos microbianos, com dietas suplementadas com diferentes concentrações de Mananoproteína.

Parâmetros	Mananoproteína (%)			
	Controle (0,00)	0,02	0,08	0,12
Peso final (g)	12,53 ±0,15	11,63 ±2,05	11,23 ±0,35	11,77 ±0,23
Ganho de peso semanal (g. semana <sup>-1</sup> )	0,960,01	0,86 ±0,21	0,82 ±0,05	0,87 ±0,03
Biomassa final (kg. m <sup>-3</sup> )	3,01 ±0,14	3,12 ±0,36	3,00 ±0,07	3,14 ±0,06
Sobrevivência (%)	74,77 ±3,44 <sup>a</sup>	84,50 ±4,76 <sup>b</sup>	83,53 ±1,40 <sup>b</sup>	83,27 ±1,70 <sup>b</sup>
Eficiência alimentar	0,40 ±0,02	0,35 ±0,06	0,33 ±0,02	0,35 ±0,01

<sup>a,b</sup> Diferentes letras na linha indicam diferença estatística pelo teste de Tukey com significância de 0,05.

## 6.6 Conclusão

A suplementação com mananoproteína na dieta de *L. vannamei*, quando cultivado em sistema superintensivo de bioflocos, promove aumento na sobrevivência dos camarões. Adicionalmente, a suplementação dietética na dosagem de 0,8 e 1,2 g. kg<sup>-1</sup> promove aumento da largura, comprimento e perímetro das vilosidades intestinais.

Contudo a suplementação de mananoproteína na dieta não afeta a microbiota intestinal, eficiência alimentar e o ganho de peso final do camarão.

## 6.7. Referencias do Artigo

AGUILERA-RIVERA, D.; PRIETO-DAVÓ, A.; ESCALANTE, K.; CHÁVEZ, C.; CUZON, G.; GAXIOLA, G. 2014. Probiotic effect of floc on *Vibrios* in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 424–425, 215–219.

ANUTA, J.D.; BUENTELLO, A.; PATNAIK, S.; HUME, M.E.; MUSTAFA, A.; GATLIN III, D.M.; LAWRENCE, A.L., 2014. Effects

of dietary supplementation of a commercial prebiotic Previta® on survival, growth, immune responses and gut microbiota of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, Doi: 10.1111/anu.12257.

APHA (2005) *Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater* (21 st ed). American Public Health Association, Washington, DC, USA.

AVNIMELECH, Y., 1999. Carbon:nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, 176,227-235.

AVNIMELECH, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. **Aquaculture**, 264, 140–147.

AVNIMELECH, Yoram. **Biofloc Technology: A Practical Guide** book. 2. ed. Louisiana, United States: The World Aquaculture Society, 2012. 283 p.

BALOI M., ARANTES R., SCHVEITZER R., MAGNOTTI C. & VINATEA L. (2012) Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. **Aquacultural Engineering**, 52, 39–44.

COSTA, Eduardo de Freitas. **Validação de estratégias a campo para o controle de Salmonellas sp. na cadeia de produção de suínos**. 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CRAB, R., LAMBERT, A., DEFOIRDT, T. BOSSIER, P. & VERSTRAETE W. 2010. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. **Journal of Applied Microbiology**. 109, 1643–1649.

CUONG, B.; DUNG, V. K.; HIEN, N. T. T.; THU, D. T., 2013. Prebiotic evaluation of copra-derived Mannooligosaccharides in white leg shrimps. **Aquaculture Research & Development**, 4 (5), 1-5.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J., 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and

heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, 257, 346-358.

EDWARDS, M.V.; EDWARDS, A.C.; MILLARD, P.; KOCHER, A. 2014. Mannose rich fraction of *Saccharomyces cerevisiae* promotes growth and enhances carcass yield in commercially housed grower–finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, 197, 227–232.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Aquaculture development: good aquaculture feed manufacturing practice**. Romi: Aquatic Feed Mill, 2001. 58 p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1453e/y1453e00.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2015.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: Sofia, 2014. 274 p.

FAO-FISHSTAT. 2013. **FAO Fisheries Data Statistical Reporting Software**. Disponível em <[www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en](http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en)>. Acesso em 09 de fevereiro de 2015.

FOX, J.M.; LAWRENCE, A.L.; LI-CHAN, E. 1995. Dietary requirements for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. **Aquaculture**, v. 131, p. 279-290.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: 5º Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição, Balneário Camboriú, SC. **Anais**. 2004.

GENC, M.A.; AKTAS, M.; GENC, E.; YILMAZ, E., 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). **Aquaculture Nutrition**, 13, 156–161.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, 125 (6), 1401-1412.

HARGREAVES, J. A., 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center**, 4503,1-11.

HOOGER, D. M.; CONOLLY, A., 2011. Meta- Analysis summary of broiler chicken trials with dietary Actigen® (2009-2011). **International Journal of Poultry Science**, 10, 819-8824.

LIGHTNER, D. V., REDMAN, R. M.; PANTOJA, C. R.; TANG, K. F.; NOBLE, B. L.; SCHOFIELD, P.; MOHNEY, L. L.; NUNAN, L. M.; NAVARRO, S. A., 2012a. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate Pathology**, 110 (2), 174-183.

LUNA- GONZÁLEZ, A.; SALAS, J.C.A.; CORONADO, J.A.F.; MIRANDA, M.C.F.; OCAMPO, H.A.G.; GÓMES, V.P., 2012. The prebiotic inulin increases the phenoloxidase activity and reduces the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. **Aquaculture**. 362-363, 28-32.

KAUTSKY, N.; RÖNNBÄCK, P.; TEDENGREN, M.; TROELL, M., 2000. ECOSYSTEM perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, 191,145-161.

KRUMMENAUER, D.; PEIXOTO, S.; CAVALLI, R. O.; POERSCH, L. H.; WASIELESKY, W. JR., 2011. Superintensive Culture of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a Biofloc Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities. **Journal Of The World Aquaculture Society**, 42 (5), 426- 733.

MATHIS, G. F.; LUMPKINS, B.; PIERCE, J. L.; HOOGE, D. M., 2012. Effects of Dietary Antibiotics, Actigen® Yeast Cell Wall Derivative, or Both on Broiler Chicken Live Performance in a Fifty-Two Day Pen Trial on Built-up Litter. **Japan Poultry Science Association**, 49, 313-318.

MORALES-LÓPEZ, R.; AUCLAIR, E.; GARCIA, F.; ESTEVE-GARCIA, E.; BRUFAU, J., 2009. Use of yeast cell walls;  $\beta$ -1, 3/1, 6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. **Poultry Science**, Mexico, 88,601-607.

NRC (National Research Council), Committee on Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**, Washington: National Academic Press, p. 376, 2011.

NUNAN, L.; LIGHTNER, D.; PANTOJA, C.; GOMEZ-JIMENEZ, S., 2014. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. **Detection Of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (ahpnd) In Mexico**, 111, 81-86.

ROSEN, G. D., 1996. Feed additive nomenclature. **World's Poultry Science Journal**. 52.

OANH, Dang Thi Hoang. Pesticides and Antibiotics used in Farmed Shrimp in the Mekong Delta, Vietnam: Are they associated with Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS)? In: PLANT E ANIMAL GENOME ASIA, Singapura. **Anais** . 2014. Disponível em: <<https://pag.confex.com/pag/asia2014/webprogram/Paper13539.html>>. Acesso em: 26 jan. 2015.

POERSCH, L. H.; FÓES, G.; KRUMMENAUER, D.; ROMANO, L. A.; E WILSON WASIELESKY, W. JR. **Bioflocos uma alternativa para camarões saudáveis Fazenda catarinense volta a operar com sucesso em área afetada pelo vírus da mancha branca**. 2012. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2369>>. Acesso em: 3 jan. 2015.

PONCE-PALAFOX, J., MARTINEZ-PALACIOS, C.A., ROSS, L.G., 1997. The effect of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture**, 157,107-115.

RAMÍREZ, N. B.; SEIFFERT, W Q.; VIEIRA, F. N.; MOURIÑO, J. L. P.; JESUS, G. F. A.; FERREIRA, G. S.; EDEMAR ROBERTO ANDREATTA, E. R., (2013) Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28 (8), 913-919.

RINGO, E.; OLSEN, R. E.; GIFSTAD, T. Ø.; DALMO, R. A.; AMLUND, H.; HEMRE, G. -I.; BAKKE, A. M., 2010. Probiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, 16, 117-136.

SAAD, S. M. Y., 2006. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 42(1), 1-16.

SANG, H. M.; KIEN, N. T.; THUY, N. T., 2014. Effect of dietary mannan oligosaccharide on growth, survival, physiological, immunological and gut morphological conditions of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius 1798). **Aquaculture**, 20, 341-348.

SCHVEITZER, R.; ARANTES, R.; BALOI, M. F.; COSTÓDIO, P. F. S.; VINATEA, L. A.; SEIFFERT, W. Q.; ANDREATTA, E. R. (2013a). Use of artificial substrates in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Biofloc System) at different stocking densities: Effects on microbial activity, water quality and production rates. **Aquacultural Engineering**, 54, 93-103.

SCHVEITZER R., ARANTES R, COSTÓDIO P.F.S., ESPÍRITO SANTO C.M., VINATEA L.A., SEIFFERT W. Q.; ANDREATA E.R. (2013b). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, 56, 59–70.

SHEKAR, M.; PRADEEP, B.; KARUNASAGAR, I., 2012. White spot syndrome virus: Genotypes, Epidemiology and Evolutionary Studies. **Indian Journal of Virology**, 23 (2), 175-183.

SILVA, B. C.; VIEIRA, F. N.; MOURIÑO, J. L. P.; FERREIRA, G.S.; SEIFFERT, W. Q., 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, 384–387, 104–110.

SONG, S. K.; BECK, B. R.; KIM, D.; PARK, J.; KIM, J.; KIM, H. D.; RINGO, E., 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. **Fish & Shellfish Immunology**, 40, 40-48.

SPRING, P.; PRIVULESKU, M., 1998. Mannan oligosaccharide: its logical role as natural feed additive for piglets. In: *Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*, (ed. by T.P.Lyons & K.A.Jacques), pp. 553–561. Nottingham University Press, Nottingham, UK

STRICKLAND, J.D.H., PARSONS, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fishery Research Board Canada, p.p.310.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; BETANCOR, M. B.; MONTERO, D.; CABALLERO, M. J.; SWEETMAN, J.; IZQUIERDO, M., 2013. Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. **Fish & Shellfish Immunology**, 34, 1485-1495.

TRAN, L.; NUNAN, L.; REDMAN, R. M.; LEONE L. MOHNEY, L. L.; PANTOJA, C. R.; FITZSIMMONS, K.; LIGHTNER, D. V., 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases Aquatic Organisms**, 105, 45-55.

VAN WYK, P., SCARPA, J., 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p.p. 128–138.

ZHANG, J.; LIU, Y.; TIAN, L.; YANG, H.; LIANG, G.; XU, D., 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, 33, 1027-1032.

ZHOU, Z.; DING, Z.; HUIYUAN, L.V., 2007. Effects of dietary short-chain fructooligosaccharides on intestinal microflora, survival, and growth performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 38 (2), 296- 301.

ZHOU, Q.; ZENG, W.; WANG, H.; WANG, T., WANG, Y.; XIE, F. 2012. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 364-365, 252-258.

WASIELESKY W.JR., ATWOOD H., STOKES A.; BROWDY C.L. (2006) Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based superintensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 258, 396–403.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mananoproteína mostrou ter um grande potencial para ser utilizado como prebiótico para o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema superintensivo de bioflocos. Já que não houve incremento no ganho de peso semanal, conversão alimentar e biomassa final, sugere-se que sejam feitos estudos de engorda em água clara ou usando conversão alimentar programada, para se avaliar melhor o consumo da ração e o ganho de peso semanal, já que no presente estudo não foi observado sobra de ração nas bandejas.

## 8 REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

AVNIMELECH, Yoram. Carbon:nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. **Aquaculture**, v.176, p.227-235, 1999.

AVNIMELECH, Yoram; KOCHBA, Malka. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using <sup>15</sup>N tracing. **Aquaculture**, Israel, v. 287, p.163-168, 2009.

AVNIMELECH, Yoram. **Biofloc Technology: A Practical Guide** book. 2. ed. Louisiana, United States: The World Aquaculture Society, 2012. 283 p.

ALDERMAN, D. J.; HASTINGS, T. S. Antibiotic use in aquaculture: Development of antibiotic resistance - Potential for consumer health risks. **International Journal Of Food Science And Technology**, Weymouth, United Kingdom, v. 33, n. 2, p.139-155, 1998.

ANDERSON, Douglas P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. **Annual Review Of Fish Diseases**, Usa, p.281-307, 1992

ASADUZZAMAN, M. et al. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds. **Aquaculture**, Bangladesh, v. 280, p.117-223, 2008.

AUSTIN, B.; ZHANG, X.-h. *Vibrio harveyi*: A significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. **Letters In Applied Microbiology**, Edinburgh, United Kingdom, v. 43, n. 2, p.119-124, 2006.

BARATA, Zuleide Rafaela Pimentel. **Avaliação do uso de mananoproteínas de parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em rações para frango de corte criados em clima quente e úmido**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saúde e Produção Animal na Amazônia.; Departamento de Sistemas de Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2012.

BARRACCO, M. A., PERAZZOLO, L. M.; ROSA, R. D. 2008. Inmunologia de crustáceos, con énfasis en camarones Capítulo 6. **In:**

**MORALES, V e CUELLAR-ANGEL J. (eds). Guia Prática en Patología e Inmunologia de Camarones Penaeidos.** Ed. CYTED, pp.169 – 224. 2008.

BANERJEE, Sanjoy et al. Antibiotic Resistant Salmonella and Vibrio Associated with Farmed Litopenaeus vannamei. **The Cientific World Journal**, Serdang, Malaysia, v. 2012, p.1-6, 2012.

BOONTHAI, T.; VUTHIPHANDCHAI, V.; NIMRAT, S.. Probiotic bacteria effects on growth and bacterial composition of black tiger shrimp (penaeus monodon). **Aquaculture Nutrition**, Chon Buri, Thailand, v. 17, n. 6, p.634-644, 2011.

BURFORD, Michele A. et al. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. **Aquaculture**, Australia, v. 219, p.393-411, 2003.

CARDOSO, E. J. B. N.; NOGUEIRA, M. A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. **In: Silveira, A. P. D.; Freitas, S. S. (org.). Microbiota do solo e qualidade ambiental.** Campinas: Instituto Agrônômico, 2007, p.78-96.

COSTA, Eduardo de Freitas. **Validação de estratégias a campo para o controle de Salmonellas sp. na cadeia de produção de suínos.** 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinaria, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CRAB, R., LAMBERT, A., DEFOIRDT, T. BOSSIER, P. & VERSTRAETE W. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. **Journal of Applied Microbiology**. v. 109, p. 1643–1649, 2010.

CRAB, Roselien et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. **Aquaculture**, Gent, Belgium, v. 270, p.1-14, 2007.

CRAB, Roselien et al. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, Bélgica, v. 356-357, p.351-356, 2012.

CUONG, do Bien et al. Prebiotic evaluation of copra-derived Mannooligosaccharides in white leg shrimps. **Aquaculture Research & Development**, Vietnam, v. 4, n. 5, p.1-5, 2013.

DAVIS, M. E. et al. Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. **Journal Of Animal Science**, Morehead, Ky, v. 82, p.1882-1891, 2004.

DE SCHRYVER, Peter et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. **Aquaculture**, Belgica, v. 277, p.125-137, 2008.

DEFOIRDT, T. et al. Short-chain fatty acids and poly- $\omega$ -hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 680 – 685, 2009.

DEFOIRDT, Tom. Virulence mechanisms of bacterial pathogens and aquaculture antivirulence therapy for aquaculture. **Reviews In Aquaculture**, Gent, Belgium, v. 6, p.100-114, jun. 2014.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 257, p. 346-358, 2006.

EDWARDS, M.V. et al., Mannose rich fraction of *Saccharomyces cerevisiae* promotes growth and enhances carcass yield in commercially housed grower–finisher pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197 p. 227–232, 2014.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: Sofia, 2014. 274 p.

FRÓES, Charles et al. Densidade de estocagem na engorda de camarão-branco cultivado em sistema de biofoco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio Grande, Brasil, v. 48, n. 8, p.878-884, 2013.

FURTADO, P.S; POERSCH, L.H; WASIELESKY, W.Jr. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality

and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. **Aquaculture**, Rio Grande, Brasil, v. 321, p.130-135, 2011.

FURTADO, Plínio S. et al. Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). **Aquaculture**, Rio Grande, Brasil, v. 23, n. 1, p.315-327, 2014.

GATESOUBE, F.J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.180, p. 147–165, 1999.

GARCIA, F.; **Suplementação alimentar com  $\beta$ -glucano e manan oligossacarídeo para tilápias do nilo em tanques-rede**. 2008. 100f. Tese (Doutorado)- Curso de Aquicultura, Departamento de Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Paulista, São Paulo, 2008.

GENC, M.A.; AKTAS, M.; GENC, E.; YILMAZ, E. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). **Aquaculture Nutrition**, v. 13, p. 156–161, 2007.

GHAZALEH, Maite N.; FROELICH, Brett A.; NOBLE, Rachel T.. The effect of storage time on *Vibrio* spp. and fecal indicator bacteria in an Isco autosampler. **Journal Of Microbiological Methods**, Usa, v. 104, p.109-116, 2014.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125 n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M. **Handbook of Prebiotics**. 1. ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2008; 480.

GOMES, M. O. S. **Efeito da adição de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminas fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães**. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado)- Curso de Medicina Veterinária,

Departamento de Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Paulista, São Paulo, 2009.

HARGREAVES, John A.. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. **Aquacultural Engineering**, Usa, v. 34, p.344-363, 2006.

HARGREAVES, John A.. Biofloc Production Systems for Aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center**, Usa, v. 4503, p.1-11, abr. 2013.

HOOGE, D. M.; KIERS, A.; CONNOLLY, A. Meta-analysis Summary of Broiler Chicken Trials with Dietary Actigen™ (2009-2012). **International Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 1, p.1-8, 2013.

IGLESIAS-HERNÁNDEZ et al. Rendimiento de manano en la corriente secundaria de obtención de  $\beta$ -1,3-glucano. **Revista Cubana de Química**, Mayabeque, Cuba, v. 25, n. 3, p.307-310, 2013.

IMMANUEL, Grasian et al. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). **Fish & Shellfish Immunology**, Tamilnadu, India, v. 32, p.551-564, 9 jan. 2012.

JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere—a critical review. **Plant and Soil**, v. 205 (1), p. 25-44, 1998.

KARUNASAGAR, I. et al. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture**, Mangalore, India, v. 128, p.203-209, 1994.

KOCHER A. The potential for immunosaccharides to maximise growth performance—a review of six published meta-analyses on Bio-Mos. In: **Tucker LA, Taylor-Pickard JA, editors. Interfacing immunity, gut health and performance**. Nottingham University Press; 2004. pp. 107 e 16.

KRUMMENAUER, Dariano et al. The Effect of Probiotics in a *Litopenaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal Of Applied Aquaculture**, Rio Grande, Brasil, v. 4, n. 26, p.370-379, 4 jan. 2015.

LE, Tuan Xuan; MUNEKAGE, Yukihiro; KATO, Shin-ichiro. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. **Science Of The Total Environment**, Hanoi, Vietnam, v. 349, p.95-105, 2005.

LIPKE, P.N.; OVALLE, R.; MINIREVIEW: Cell Wall Architecture in Yeast: New Structure and New Challenges. **JOURNAL OF BACTERIOLOGY**, New York, v. 180, n. 15, p. 3735–3740 , 1998.

LIU, Kuan-fu et al. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. **Fish & Shellfish Immunology**, Taiwan, v. 28, n. 5-6, p.837-844, 2010.

LIU, H. et al. The intestinal microbial diversity in Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) as determined by PCR–DGGE and clone library analyses. **Aquaculture**, v. 317, n. 1, p. 32-36, 2011.

LIGHTNER, D. V. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. **World Aquaculture Society**, Balton Rouge, Louisiana, 1996.

LIGHTNER, D. V. et al. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. **Journal of Invertebrate Pathology**, v., 110 (2), p. 174-183, 2012a

LIGHTNER, D. V. et al. Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. **Global Aquaculture Advocate Magazine**, Jan-Feb, p. 40, 2012b.

LÜCKSTÄDTS, C. The use of acidifiers in fish nutrition. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 44 (3), p. 1 – 8, 2008.

MAIORKA, A. et al. Utilização de Prebióticos, Probióticos ou Simbióticos em Dietas para Frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, n. 1, p.75-82, 2001.

MARTINEZ, Jose Luis. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**, Madrid, Spain, v. 157, p.2893-2902, 2009.

McABEE B.J. et al. The use of greenhouse-enclosed raceway systems for the super-intensive production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in the United States. *Global Aquac. Advocate*, v.6, p.40-43. 2003.

MELO, Ligia Maria Rodrigues de et al. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from pond-reared *Litopenaeus vannamei* marketed in Natal, Brazil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, Natal, Brasil, v. 42, n. 4, p.1463-1359, 2011.

MORALES-LÓPEZ, R. et al. Use of yeast cell walls;  $\beta$ -1, 3/1, 6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. **Poultry Science**, Mexico, v. 88, p.601-607, 2009.

MORAN, C. A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries, Kentucky, 2004. **Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium:re-imagining the feed industry**: Lexington, USA, p. 283-296, 2004.

MORENO, Inmaculada et al. *Saccharomyces cerevisiae* Rds2 transcription factor involvement in cell wall composition and architecture. **International Microbiology**, Valencia, Espanha, v. 11, p.57-63, fev. 2008.

NAVINCHANDRAN, Manohar et al. Influence of probiotic bacterium *Bacillus cereus* isolated from the gut of wild shrimp *Penaeus monodon* in turn as a potent growth promoter and immune enhancer in *P. monodon*. **Fish & Shellfish Immunology**, Tamilnadu, India, v. 23, n. 1, p.38-45, 2014.

NORMAN, Keri N. et al. Survey of *Clostridium difficile* in retail seafood in College Station, Texas. **Food Additives & Contaminants: Part A**, Texas, Usa, v. 31, n. 6, p.1127-1129, 2014.

NUNAN, Linda et al. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. **Detection Of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (ahpnd) In Mexico**, v. 111, p.81-86, 21 ago. 2014.

O'SULLIVAN, Laurie et al. Prebiotics from Marine Macroalgae for Human and Animal Health Applications. **Marine Drugs**, Ireland, v. 8, p.2038-2064, 1 jul. 2010.

ÓZORIO, Renata Ávila. **Desempenho zootécnico, enzimas digestivas e imunocompetência em camarões *Litopenaeus vannamei* alimentados com dieta suplementada com extrato de polissacarídeo da microalga *Porphyridium cruentum*** . 2013. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Aquicultura e Recurso Pesqueiro, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

POERSCH, Luís Henrique et al. **Bioflocos uma alternativa para camarões saudáveis Fazenda catarinense volta a operar com sucesso em área afetada pelo vírus da mancha branca**. 2012. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/novosite/?p=2369>>. Acesso em: 3 jan. 2015.

RAMÍREZ, Norha Bolívar et al. Dieta suplementada com prebiótico, probiótico e simbiótico no cultivo de camarões marinhos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Santa Catarina, Brasil, v. 28, n. 8, p.913-919, 2013.

REBOUÇAS, Rosa Helena et al. Antimicrobial resistance profile of *Vibrio* species isolated from marine shrimp farming environments (*Litopenaeus vannamei*) at Ceara', Brazil. **Environmental Research**, Piauí, Brasil, v. 111, p.21-24, 2011.

ROBERFROID, M. Dietary fibre, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **CRC Crit Rev Food Sci Technol**, v. 33, p.103-148, 1993.

ROMANO, Nicholas; KOH, Chik-boon; NG, Wing-keong. Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, Penang, Malaysia, v. 435, p.228-236, 2015.

SCHVEITZER, R. et al. Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a

tank system operated with no water exchange. **Aquacultural Engineering**, v.56, p.59–70. 2013a.

SERASPE, Ebonia B. et al. Evaluation of dietary freeze-dried *Chaetoceros calcitrans* supplementation to control *Vibrio harveyi* infection on *Penaeus monodon* juvenile. **Aquaculture**, Filipinas, v. 432, p.212-216, maio 2014.

SILVA, Bruno Corrêa da. C. et al. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, v.384–387, p.104–110, 2013.

SILVA, Bruno Corrêa da. **Sais orgânicos como aditivos alimentares para camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. 2014. 150 f. Tese (Doutorado) - Curso de Aquicultura, Departamento de Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/123289/3/25610.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2014.

SONG, Seong Kyu et al. Probiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. **Fish & Shellfish Immunology**, Coreia, p.40-48, 16 jun. 2014.

SUDHA, Santha et al. Prevalence and antibiotic resistance of pathogenic *Vibrios* in shellfishes from Cochin market. **Indian Journal Of Geomarine Sciences**, Kerala, India, v. 43, n. 5, p.815-824, 2014.

TENDENCIA, Eleonor A.; LAPENA, Leobert D. de. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. **Aquaculture**, Iloilo, Philippines, v. 195, p.193-204, 2001.

THANIGAIVEL, S. et al. Antioxidant and antibacterial activity of *Chaetomorpha antennina* against shrimp pathogen *Vibrio parahaemolyticus*. **Aquaculture**, Tamil Nadu, India, v. 433, p.467-475, 2014.

TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; BETANCOR, M. B.; MONTERO, D.; CABALLERO, M. J.; SWEETMAN, J.; IZQUIERDO, M. Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34, p.1485-1495, 2013.

TRAN, L. et al. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. **Diseases Aquatic Organisms**, v. 105, p 45-55, 2013.

VAN WYK, P., SCARPA, J., 1999. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, p.p. 128–138.

VELMURUGAN, S. et al. Screening and characterization of antiviral compounds from *Enteromorpha flexuosa* against white spot syndrome virus (WSSV) and its in vivo influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Aquaculture International**, Tamilnadu, India, v. 23, n. 1, p.65-80, 2015.

VIEIRA, F.N. **Seleção e utilização de bactérias probióticas na carcinicultura marinha**. 2010. 133 f. Tese (Doutorado) - Curso de Aquicultura, Departamento de Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010. Disponível em: < <http://pct.capes.gov.br/teses/2010/41001010019P2/TES.PDF> >. Acesso em: 15 nov. 2014. Tese de Doutorado. Programa de pós-graduação em Aquicultura. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

WU, Ding Xin et al. Effects of a probiotic (*Bacillus subtilis* FY99-01) on the bacterial community structure and composition of shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone) culture water assessed by denaturing gradient gel electrophoresis and high-throughput sequencing. **Aquaculture Research**, China, p.1-13, 2014.

XU, Wu-jie; PAN, Lu-qing. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. **Aquaculture**, Qingdao, China, v. 412, n. 413, p.117-124, 2013.

ZHANG, Jian et al. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, China, v. 33, p.1027-1032, 12 maio 2012.

ZOKAEIFAR, Hadi et al. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, Serdang, Malaysia, v. 33, n. 4, p.683-689, 2012.

**ANEXO 1: Ração pronta, sem secar na estufa.**

## ANEXO 2: Mananoproteína, Actigen®.



**ANEXO 3: Unidades Experimentais.**



**ANEXO 4: Tanque de remoção de sólidos**

**ANEXO 5:** Morfologia do trato intestinal do camarão marinho *L. vannamei*, alimentado com dieta contendo diferentes concentrações de mananoproteína (MP), cultivados em sistema superintensivo de bioflocos microbianos.

